

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ANIMAL



**Impactos tróficos da rã-de-unhas-africana *Xenopus laevis*  
na ribeira de Barcarena (Oeiras, Portugal)**

Mestrado em Biologia da Conservação

**Raquel Pereira Marques**

Dissertação orientada por:  
Prof. Doutor Rui Rebelo

**2016**



Esta dissertação foi suportada pelo projecto BIODIVERSA/0001/2012 “Biologia da invasão de *Xenopus laevis* na Europa: ecologia, impactos e modelos preditivos (INVAXEN)”. Todos os animais foram capturados no âmbito do “Plano de erradicação de *Xenopus laevis* nas ribeiras do Concelho de Oeiras” mediante licenças de captura emitidas pelo Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas (ICNF).



## Agradecimentos

Ao Professor Rui Rebelo, os meus sinceros agradecimentos pela orientação, por todos os conhecimentos transmitidos, pelas várias revisões e correcções da tese, e pela admirável disponibilidade (e paciência) para esclarecer dúvidas e discutir ideias;

Ao ICNF e à Câmara Municipal de Oeiras, pelo apoio logístico no campo. Um agradecimento especial à Mónica Sousa pela iniciação à arte da pesca eléctrica e à Ângela Maurício por todas as boleias para Oeiras;

Aos bolseiros do projecto:

Francisco Moreira, também conhecido como Cesar Millan dos Xenopus, por toda a ajuda durante a tese, tanto no campo, biotério e laboratório como através da discussão de ideias, pelo fornecimento de mapas e pela, não relacionada mas também importante, partilha de cultura musical;

Vânia Baptista, eterna optimista, por toda a ajuda na preparação das amostras para os isótopos e no teste de consumo e pelas palavras de motivação. Espero que recuperem de alguma forma todas as horas de vida que passaram a trocar águas comigo no biotério;

Ao sens... ato Ricardo Rodrigues, pela introdução ao manuseamento das xenopas e por toda a ajuda disponibilizada;

À Catarina Serra Gonçalves, parceira de laboratório, pela companhia. E aos restantes “awesomes”, pelas tentativas de me tirar da “gruta”;

À Patrícia Pedro, pelas discussões isotópicas e pelo contributo na identificação de alguns invertebrados;

Ao Philippe J. R. Kok, pela preciosa ajuda na identificação das estruturas misteriosas que apareciam nos estômagos;

Aos amigos de sempre, aos que estão comigo desde o início da licenciatura e aos mais demorados que só “chegaram” uns poucos anos depois, pelo *bright side of life*. Perdoem-me a lamechice e o resumo de tudo aquilo pelo qual vos estou agradecida e que tanto me ajudou ao longo da tese;

Por último mas mais importante, aos meus pais, por todo o apoio, incentivo e paciência.

## Resumo

As espécies exóticas invasoras constituem uma das principais ameaças para a biodiversidade à escala global, particularmente em ecossistemas de água doce. A introdução de predadores nestes ecossistemas é responsável por uma grande variedade de impactos ecológicos que vão desde alterações na abundância das espécies nativas até extinções. A rã-de-unhas-africana *Xenopus laevis* tem populações invasoras conhecidas em vários países, incluindo Portugal. Em 2014 foram capturados 4814 animais pós-metamorfoseados na ribeira de Barcarena, valor consideravelmente superior ao número total de capturas efectuadas em anos anteriores. De forma a averiguar os potenciais impactos tróficos de *X. laevis* na ribeira de Barcarena, este estudo teve como principais objectivos: determinar a dieta da espécie através da análise de conteúdos estomacais, e comparar a sua composição e o índice de repleção estomacal dos indivíduos entre diferentes anos e entre locais com diferentes abundâncias da espécie em 2014; investigar possíveis diferenças na estrutura da cadeia trófica entre locais da ribeira onde *X. laevis* apresentou uma elevada abundância e onde ainda não existem registos da sua presença, através da análise de isótopos estáveis; aferir os níveis tróficos da espécie invasora e das espécies de peixes nativas de forma a avaliar a possibilidade de competição interespecífica; estimar o impacto predatório da população invasora através da quantificação de taxas de consumo diário em laboratório. Os resultados mostram que a dieta de *X. laevis* é predominantemente constituída por macroinvertebrados bentónicos, maioritariamente representados por larvas de efemerópteros, larvas de dípteros e gastrópodes. Confirmou-se a predação de vertebrados das espécies *Pelophylax perezi* e *Cobitis paludica*, fenómeno contudo pouco frequente. O aumento da amplitude do nicho trófico entre 2012 e 2014 poderá reflectir um aumento de competição intraespecífica provocado pelo aumento da abundância da espécie nos últimos anos. Foram encontradas diferenças isotópicas na base das cadeias tróficas que não permitiram determinar se a espécie tem impactos na estrutura destas. No entanto, a assinatura isotópica similar de  $\delta^{15}\text{N}$  de *X. laevis*, *C. paludica* e *Iberochondrostoma lusitanicum* indica uma potencial sobreposição dos recursos utilizados pela espécie invasora e por ambas as espécies nativas. Por último, estimou-se que o efectivo populacional alcançado pela espécie em 2014 conseguiria remover anualmente mais de uma tonelada de biomassa das suas principais presas da área invadida da ribeira. Este estudo sugere uma maior probabilidade de impacto nos peixes nativos através de competição por recursos do que através de predação e reforça a importância da monitorização regular do efectivo populacional de *X. laevis* e da continuação das medidas aplicadas para a erradicação da espécie na ribeira de Barcarena.

**Palavras-chave:** Espécies invasoras; impactos; ecossistemas de água doce; dieta; análise de isótopos estáveis; taxas de consumo.

## Abstract

Invasive alien species are one of the main threats to biodiversity on a global scale, particularly in freshwater ecosystems. Introduced predators in these ecosystems are responsible for a wide variety of ecological impacts ranging from changes in native species abundance to extinctions. The African clawed frog *Xenopus laevis* maintains invasive populations in several countries, including Portugal. A total of 4814 post-metamorphosed animals were captured in 2014 in Barcarena stream, a considerably higher number than the total number of catches in previous years. In order to assess the potential trophic impacts of *X. laevis* in Barcarena stream, the main goals of this work were: to determine the species diet through stomach contents analysis and compare its composition and individual stomach fullness index among different years and, for the 2014 sample, among sites with different abundances of the invader; to use stable isotopes to investigate possible differences in trophic chain structure between stream sites where *X. laevis* was present with a high abundance and where there is as yet no record of its presence; to estimate the trophic levels of the invasive species and of native fish species in order to evaluate the possibility of interspecific competition; to estimate the predatory impact of the invasive population by quantifying daily consumption rates in laboratory. Results showed that *X. laevis* diet in Barcarena stream is mainly composed of benthic macroinvertebrates, mostly ephemeroptera larvae, diptera larvae and gastropods. Predation on native vertebrates *Pelophylax perezi* and *Cobitis paludica* was confirmed, but it was a rare occurrence. The trophic niche expansion between 2012 and 2014 could be the result of increased intraspecific competition with higher abundance over the years. Isotopic differences at the base of the food chains did not allow determining possible impacts on their structure. However, the similar  $\delta^{15}\text{N}$  signatures of *X. laevis* and of the native fishes *C. paludica* and *Iberochondrostoma lusitanicum* indicates a potential resource overlap. Finally, we estimated that the very abundant 2014 population would be able to annually remove more than one ton of biomass of their main prey from the stream invaded area. This study suggests a higher probability of impact on native fishes through competition rather than through predation and reinforces the importance of regular monitoring of the *X. laevis* invasive population, as well as of the continuation of efforts to eradicate the species in Barcarena stream.

**Keywords:** Invasive species; impacts; freshwater ecosystems; diet; stable isotopes analysis; consumption rates.

## Índice

1. Introdução.....	9
2. Objectivos.....	18
3. Métodos.....	19
3.1. Área de estudo .....	19
3.2. Análise de conteúdos estomacais.....	19
3.2.1. Recolha de amostras .....	19
3.2.2. Procedimento laboratorial .....	20
3.2.3. Análise de dados.....	20
3.3. Análise de isótopos estáveis .....	24
3.3.1. Recolha de amostras .....	24
3.3.2. Procedimento laboratorial .....	25
3.3.3. Análise de dados.....	25
3.4. Teste de consumo.....	26
3.4.1. Procedimento laboratorial .....	26
3.4.2. Análise de dados.....	27
4. Resultados .....	29
4.1. Dieta.....	29
4.1.1. Descrição das amostras.....	29
4.1.2. Composição da dieta em 2014.....	31
4.1.3. Comparação da dieta entre 2012, 2013 e 2014.....	39
4.1.4. Comparação da dieta entre locais com diferentes abundâncias em 2014.	44
4.2. Estrutura das cadeias tróficas e níveis tróficos .....	47
4.3. Impacto predatório .....	50
4.3.1. Consumo em laboratório .....	50
4.3.2. Estimativa da biomassa consumida na ribeira de Barcarena.....	51
5. Discussão.....	53

5.1.	Composição da dieta .....	53
5.2.	Comparação da dieta entre 2012, 2013 e 2014 .....	57
5.3.	Comparação da dieta entre locais com diferentes abundâncias em 2014 .....	59
5.4.	Impactos na estrutura da cadeia trófica e níveis tróficos .....	60
5.5.	Impacto predatório .....	63
6.	Considerações finais.....	65
7.	Referências bibliográficas .....	66
8.	Anexos.....	77



## 1. Introdução

A globalização, através da crescente expansão do comércio e do transporte internacional nos últimos 500 anos, facilitou e intensificou a introdução intencional ou acidental de espécies em ecossistemas situados fora da sua área de distribuição nativa (Mack *et al.*, 2000; Meyerson & Mooney, 2007; Ricciardi, 2007). Apesar das probabilidades de sobrevivência durante o transporte e de posterior estabelecimento no local de introdução serem reduzidas, algumas destas espécies conseguem estabelecer populações reprodutoras auto-sustentáveis e aumentar a sua densidade e área de distribuição, completando o processo de invasão biológica (Keller *et al.*, 2011). Estas espécies exóticas invasoras, assim consideradas quando geram impactos ecológicos ou económicos negativos nas espécies e ecossistemas locais (IUCN, 2000), constituem uma das cinco principais ameaças para a biodiversidade à escala global e, em conjunto com as alterações do uso do solo e as alterações climáticas, uma das três principais ameaças para a biodiversidade em ecossistemas de água doce (Sala *et al.*, 2000).

Alguns estudos sugerem que os ecossistemas de água doce são mais susceptíveis aos impactos das espécies invasoras do que os ecossistemas terrestres (Lodge *et al.*, 1998; Sala *et al.*, 2000; Moorhouse & MacDonald, 2015). Segundo Moorhouse e MacDonald (2015), esta hipótese é suportada pelas seguintes propriedades intrínsecas dos ecossistemas de água doce: (1) Maior biodiversidade e número de endemismos existentes por unidade de área, resultantes do isolamento hidrológico e, consequentemente, biótico entre bacias (Dudgeon *et al.*, 2006); (2) Maior invasibilidade, devida à grande variedade de vectores de introdução e de dispersão secundária (alguns dos quais transportam comunidades inteiras compostas por centenas a milhares de indivíduos de múltiplas espécies, o que aumenta a probabilidade de estabelecimento; Lodge *et al.*, 1998), ao elevado número de introduções deliberadas (Copp *et al.*, 2005), e à rápida dispersão facilitada pela relativa ausência de barreiras à dispersão e pelo fluxo de água (Lodge *et al.*, 1998); (3) Maior vulnerabilidade a alterações ambientais, dado que representam zonas de transição entre sistemas ecológicos, onde os impactos gerados no meio físico podem afectar indirectamente um maior número de espécies (*e.g.* Angeler *et al.*, 2001). Tal susceptibilidade é potencialmente agravada em ecossistemas mediterrânicos pela possível interacção sinérgica de todas as principais ameaças à biodiversidade (Sala *et al.*, 2000).

Os impactos ecológicos provocados pelas invasões biológicas, definidos como qualquer alteração significativa num padrão ou processo ecológico (Pysek *et al.*, 2012), podem ocorrer ao nível individual (alterações morfológicas, dos parâmetros da história vital, ou comportamentais relacionadas com o uso do habitat ou com os padrões de actividade), populacional (efeitos na abundância, distribuição, estrutura etária e taxa de crescimento, e transmissão de parasitas ou agentes patogénicos), ao nível da comunidade (impactos na abundância e diversidade das espécies nativas, na composição das comunidades e na estrutura trófica), e ao nível do funcionamento dos ecossistemas (alterações no meio físico, ciclos de nutrientes, produtividade primária, qualidade da água, bioacumulação, entre outros) (Parker *et al.*, 1999; Mack *et al.*, 2000; Cucherousset & Olden, 2011). Estes impactos estão frequentemente relacionados com interacções bióticas interespecíficas de predação e, indirectamente, de competição por recursos (Parker *et al.*, 1999). A introdução de predadores em ecossistemas de água doce, por exemplo, é responsável por uma grande variedade de impactos que vão desde alterações na abundância das espécies-presa nativas (*e.g.* Gratwicke & Marshall, 2001), na composição das comunidades e na estrutura das cadeias tróficas (*e.g.* Vander Zanden *et al.*, 1999), até à extinção de várias espécies, como exemplificado pelos resultados da introdução da perca-do-nilo *Lates niloticus* no lago Victoria em África (Goldschmidt *et al.*, 1993). Numa perspectiva conservacionista, o estudo dos impactos tróficos de invasores nestes ecossistemas adquire deste modo uma elevada importância.

A análise da dieta de espécies invasoras permite determinar quais as espécies nativas que poderão ser afectadas pela sua presença através de predação e/ou competição por recursos (Park, 2004). A taxonomia, proporção e frequência de consumo das presas pode ser aferida através da análise de conteúdos estomacais, regularmente utilizada no estudo da dieta de peixes (Hyslop, 1980). No entanto, este método é potencialmente enviesado por diferenças na detectabilidade e digestibilidade entre presas, resultando numa sub ou sobre-representação de certos recursos, e apenas fornece informação sobre o que foi ingerido nas últimas horas ou dias (Hyslop, 1980; Park, 2004; Dorner *et al.*, 2009). Além disso, a diversidade e a quantidade das presas utilizadas, e consequentemente a amplitude do nicho trófico, poderá depender da sua disponibilidade no meio (*e.g.* Atkinson, 2013), sendo a estimativa desta muito dificultada em sistemas lóticos mediterrânicos pela elevada variabilidade espacial e

temporal da composição das comunidades aquáticas, especialmente em cursos de água pequenos e de fluxo irregular (Gasith & Resh, 1999).

A análise de isótopos estáveis, método complementar e relativamente recente na investigação dos efeitos das invasões biológicas, não só permite estudar a dieta a uma maior escala temporal (dependente da taxa de *turnover* dos tecidos do predador; Peterson & Fry, 1987) como também permite aferir possíveis impactos das espécies invasoras na estrutura das cadeias tróficas (Bodey *et al.*, 2011; Jackson *et al.*, 2012). Esta abordagem baseia-se no facto dos rácios dos isótopos estáveis de azoto ( $\delta^{15}\text{N}$ ) e carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) dos tecidos dos consumidores reflectirem os rácios dos tecidos dos seus recursos alimentares, dada a retenção preferencial dos isótopos mais pesados durante a síntese metabólica dos tecidos (fraccionamento isotópico) (Peterson & Fry, 1987). Os rácios isotópicos de carbono e azoto, sendo os mais frequentemente aplicados em estudos de ecologia trófica (Jackson *et al.*, 2012), fornecem diferentes informações. O  $\delta^{13}\text{C}$  é utilizado como indicador da fonte de energia (carbono) de um organismo, devido à sua reduzida variação ao longo da cadeia trófica (fraccionamento isotópico médio de 0.4‰ entre sucessivos níveis tróficos; Post, 2002). Este rácio isotópico é útil em sistemas como lagos, onde as fontes de produção primária podem ser distintas entre as zonas litoral e pelágica (France & Peters, 1997). O  $\delta^{15}\text{N}$  é utilizado como indicador do nível trófico, devido ao fraccionamento isotópico constante de 3-4‰ entre consumidor e recurso alimentar (Peterson & Fry, 1987; Post, 2002). As espécies que se alimentam a níveis tróficos superiores possuem assim um maior  $\delta^{15}\text{N}$ , reflexo do maior enriquecimento em  $^{15}\text{N}$ , do que as espécies que se alimentam a níveis tróficos inferiores na mesma cadeia trófica. Contudo, é impossível determinar se a variação do  $\delta^{15}\text{N}$  de uma espécie reflecte alterações na estrutura da cadeia trófica ou alterações no  $\delta^{15}\text{N}$  disponível na base da cadeia sem uma estimativa apropriada deste último (Post, 2002). Considerando a elevada variação temporal no  $\delta^{15}\text{N}$  da maioria dos produtores primários e das fontes de energia detriticas nos ecossistemas aquáticos, é recomendado que o  $\delta^{15}\text{N}$  basal seja estimado através de consumidores primários de vida longa, cujos tecidos apresentam uma variação temporal relativamente baixa (Cabana & Rasmussen, 1996; Vander Zanden & Rasmussen, 1999; Anderson & Cabana, 2007).

A variação do nível trófico de uma espécie não revela por si só a sua causa mas pode estar correlacionada com outros factores bióticos a partir dos quais é possível formular hipóteses explicativas (Wesner & Belk, 2015). Por exemplo, Vander Zanden *et*

*al.* (1999) demonstraram através da análise de isótopos estáveis que o nível trófico do peixe nativo *Salvelinus namaycush* diferia entre lagos invadidos e não invadidos por duas espécies de percas, devido a uma dieta predominantemente planctívora na presença dos invasores em oposição a uma dieta predominantemente piscívora na sua ausência.

Embora a documentação de impactos tróficos originados pela introdução de espécies invasoras em ecossistemas de água doce seja maioritariamente baseada no impacto de peixes, como os exemplos anteriormente referidos, e de invertebrados, como o mexilhão-zebra *Dreissena polymorpha* (Ricciardi *et al.*, 1998) ou o lagostim-vermelho-do-louisiana *Procambarus clarkii* (Gherardi, 2007), existem espécies invasoras de outros grupos animais, como os anfíbios, para as quais também há registos de impactos similares. Destas são exemplo a rã-touro-americana *Rana catesbeiana*, responsável pelo declínio de populações de anfíbios através de predação e competição por recursos (Kats & Ferrer, 2003), e o sapo-boi *Rhinella marina*, conhecido por envenenar os seus predadores (Shine, 2010), ambos incluídos na lista das 100 piores espécies exóticas invasoras do mundo (Lowe *et al.*, 2000).

A rã-de-unhas-africana *Xenopus laevis* (Daudin, 1802) é uma espécie nativa da África subsaariana (Tinsley *et al.*, 1996) com populações invasoras conhecidas nos EUA (McCoid & Fritts, 1993; Crayon, 2005), Chile (Lobos & Measey, 2002; Lobos *et al.*, 2013), Japão (Kokuryo, 2009), Reino Unido (Tinsley & McCoid, 1996), França (Fouquet & Measey, 2006), Itália (Lillo *et al.*, 2005; Lillo *et al.*, 2011) e Portugal (Rebelo *et al.*, 2010), e particularmente bem-sucedidas em regiões geográficas com clima mediterrânico (Lobos & Measey, 2002). A história da expansão de *X. laevis* remonta à década de 1930, quando a descoberta da utilidade da espécie em testes de diagnóstico da gravidez humana resultou na exportação de milhares de rãs da África do Sul para laboratórios internacionais (Gurdon & Hopwood, 2000) e num consequente aumento da sua distribuição em cativeiro. A posterior utilização da espécie como organismo modelo no estudo da biologia celular, molecular e do desenvolvimento, e o tráfico de animais originaram introduções acidentais e intencionais em vários pontos do globo (Measey *et al.*, 2012).

Tal como os restantes Pipidae, provavelmente a família de anfíbios com maior potencial para provocar impactos nocivos à escala global (Kark *et al.*, 2009), *X. laevis* distingue-se dos outros anuros por ser estritamente aquática durante todos os estádios do

seu ciclo de vida (Carreño & Nishikawa, 2010). As adaptações dos pipídeos incluem uma estrutura corporal adaptada ao comportamento natatório, a retenção de um sistema de linha lateral utilizado para a detecção do movimento de presas, e a carência de língua que possibilita uma alimentação por sucção inercial (Carreño & Nishikawa, 2010). Para além do corpo achatado dorsoventralmente com uma coloração verde acastanhada e um padrão mosqueado no dorso, a rã-de-unhas-africana é especificamente caracterizada pela posse de unhas negras afiadas nos três dedos interiores dos seus fortes membros posteriores (Chum *et al.*, 2013). O dimorfismo sexual da espécie é evidente no tamanho corporal (Tinsley *et al.*, 1996), com os machos a atingirem os 80 mm enquanto as fêmeas atingem os 119 mm (McCoid & Fritts, 1989). O sexo dos indivíduos pode ser identificado através de caracteres sexuais secundários, como a extensão da cloaca nas fêmeas e a presença de almofadas nupciais, com coloração mais escura, na zona interna dos membros anteriores nos machos (Measey, 2001).

*X. laevis* consegue ocupar uma grande variedade de habitats de água doce, desde águas estagnadas em charcos, barragens ou lagos a cursos de água com maior fluxo de corrente (Tinsley *et al.*, 1996). Este anfíbio demonstra uma elevada tolerância fisiológica a variações de temperatura (10 a 30°C), pH (5 a 9), salinidade e a condições anóxicas, sobrevivendo em situações adversas extremas através da estivação (enterramento em lodo) e da privação de alimento até um período de 12 meses (Jokumsen & Weber, 1980; Tinsley *et al.*, 1996; Green, 2009). Também demonstra capacidade de migração terrestre em busca de novos habitats aquáticos, percorrendo distâncias de 0.2 a 2 km (Measey & Tinsley, 1998; Fouquet & Measey, 2006).

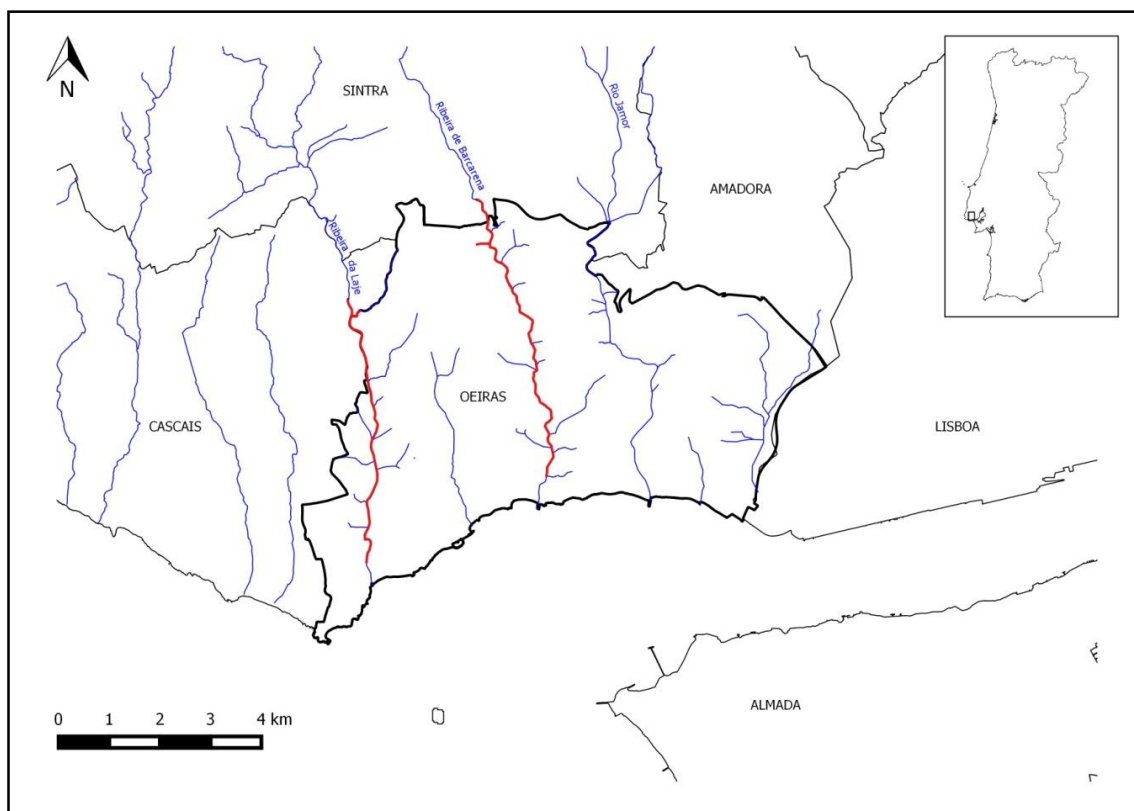
Relativamente à ecologia reprodutora, *X. laevis* caracteriza-se por uma rápida maturação sexual (6 a 8 meses após a metamorfose), um período de reprodução extenso (ao longo de quase todo o ano quando as condições ambientais, relacionadas com a temperatura e a disponibilidade de água/alimento, são favoráveis) e deposição de centenas a milhares de ovos por fêmea (máximo de 17.000) (McCoid & Fritts, 1989). O carácter invasor desta espécie é amplificado pela sua longevidade (15 a 20 anos em cativeiro; Chum *et al.*, 2013), ausente ou reduzida pressão predatória nos locais onde é introduzida, secreção de substâncias tóxicas através da pele como mecanismo de defesa contra predadores (McCoid & Fritts, 1993) e difícil detectabilidade devida à sua actividade predominantemente crepuscular e nocturna (Tinsley *et al.*, 1996).

Estudos baseados em análise de conteúdos estomacais mostram que *X. laevis* se alimenta predominantemente de invertebrados bentónicos e planctónicos (McCoid & Fritts, 1980; Schoonbee *et al.*, 1992; Tinsley *et al.*, 1996; Measey, 1998; Lobos & Measey, 2002; Lobos & Jaksic, 2005; Faraone *et al.*, 2008a; Amaral & Rebelo, 2012; Courant *et al.*, 2014), “tornando-os mais semelhantes a peixes do que a outros géneros de anuros” (Measey, 1998). A sua dieta também pode apresentar importantes contribuições de invertebrados nectónicos (Faraone *et al.*, 2008a; Amaral & Rebelo, 2012) e de invertebrados terrestres (Measey, 1998), para além de registos frequentes de canibalismo (McCoid & Fritts, 1980; Tinsley *et al.*, 1996). Existem evidências de predação de vertebrados, descritas por McCoid e Fritts (1980), Lafferty e Page (1997), Crayon (2005), Faraone *et al.* (2008b) e Amaral e Rebelo (2012).

A documentação dos impactos negativos da rã-de-unhas-africana nos países onde possui populações invasoras inclui a predação dos peixes ameaçados *Gasterosteus aculeatus williamsoni* (Tinsley & McCoid, 1996) e *Eucyclogobius newberryi* (Lafferty & Page, 1997) e de anfíbios (Crayon, 2005; Faraone *et al.*, 2008b; Amaral & Rebelo, 2012) e o declínio na ocorrência de reprodução de três espécies nativas de anfíbios num sistema de charcos (Lillo *et al.*, 2011). Pensa-se que as populações invasoras de *X. laevis* terão constituído a fonte de disseminação do fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* e, conseqüentemente, da quitridiomiose de África para os restantes continentes (Weldon *et al.*, 2004). Dado que os indivíduos infectados desta espécie não são adversamente afectados (Cheng *et al.*, 2011), é possível que actue como vector da doença, causando impactos severos nas populações de anfíbios com as quais interage (Weldon *et al.*, 2004; Solís *et al.*, 2010; Cheng *et al.*, 2011). Para além dos impactos directos mencionados, também pode provocar alterações na dinâmica dos ecossistemas aquáticos através do aumento da turbidez da água e da libertação de nutrientes por perturbação do sedimento (Lobos & Measey, 2002).

Em Portugal, *X. laevis* foi encontrada pela primeira vez em 2006 na ribeira da Laje e em 2008 na ribeira de Barcarena, no Concelho de Oeiras (Rebelo *et al.*, 2010; Figura 1). Hipotetiza-se que a sua introdução na natureza terá ocorrido no Inverno de 1979, quando um aumento do nível de água na ribeira da Laje provocou a inundação da cave de um laboratório de investigação científica, localizado na margem da ribeira, onde eram mantidos indivíduos que poderão ter sido arrastados para o curso de água (Rebelo *et al.*, 2010). O mecanismo de dispersão para Barcarena é ainda desconhecido e difícil

de explicar, uma vez que a área existente entre as duas ribeiras invadidas, separadas por uma distância média de 3.5 km, encontra-se densamente urbanizada desde a década de 1970 (Rebelo *et al.*, 2010).

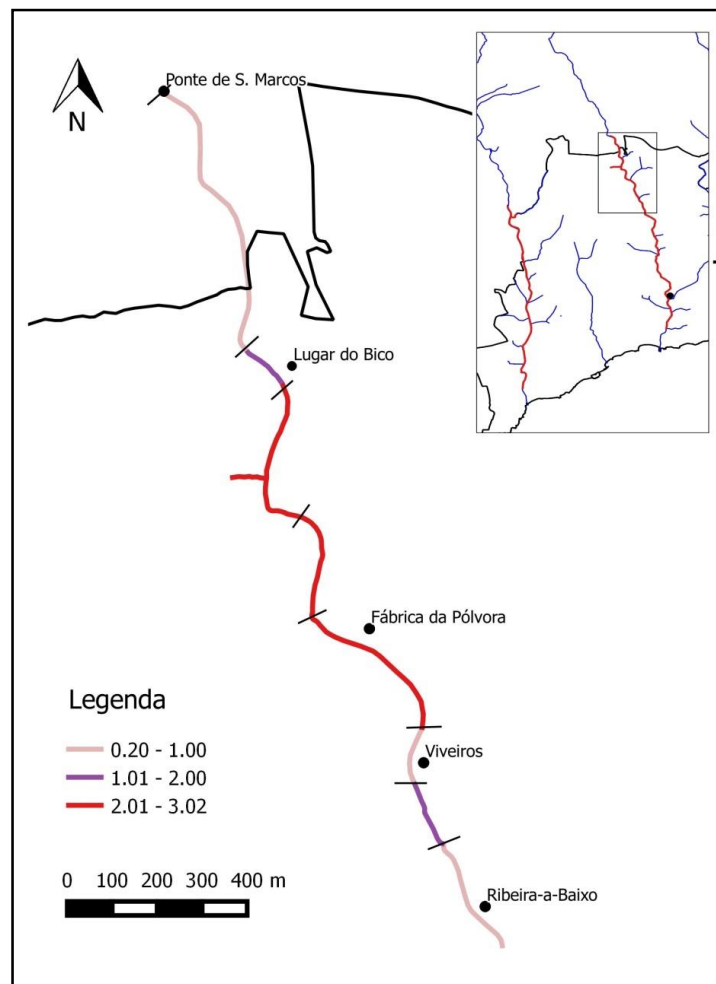


**Figura 1.** Enquadramento geográfico das ribeiras da Laje e de Barcarena em Portugal. A extensão das ribeiras ocupada por *X. laevis* entre 2010 e 2014 está indicada a vermelho.

O plano de erradicação de *X. laevis* nas ribeiras do concelho de Oeiras encontra-se em curso desde 2010 no âmbito de um protocolo estabelecido entre o Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas (ICNF), o Município de Oeiras (CMO), o Centro de Biologia Ambiental da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa (CBA/FCUL) e o Instituto Gulbenkian de Ciência (IGC). Os resultados das campanhas de erradicação mostram tendências contrastantes na evolução dos efectivos populacionais da espécie. Em 2014 foram capturados apenas dois animais adultos na ribeira da Laje, diminuição que se vinha a registar nos anos anteriores (2012: n=62; 2013: n=7) (Rebelo *et al.*, 2014). No entanto, na ribeira de Barcarena foram capturados 4814 animais pós-metamorfoseados em 2014, sendo este valor muito superior ao

número total de capturas efectuadas em 2012 (n=150) e em 2013 (n=845) (Rebelo *et al.*, 2014).

A variação do índice de abundância de *X. laevis* (número de indivíduos capturados por minuto de pesca eléctrica) ao longo da ribeira de Barcarena em 2014 evidenciou a existência de um núcleo principal de invasão com uma extensão de aproximadamente 1.5 km, entre o Lugar do Bico e os Viveiros da Câmara Municipal de Oeiras (Rebelo *et al.*, 2014; Figura 2). De acordo com as estimativas de Rebelo *et al.* (2014), esta área terá suportado cerca de 1 kg desta espécie por cada 10 m de ribeira, valor de biomassa que se aproxima dos mais elevados até agora registados em anfíbios invasores a nível mundial (Schwalbe & Rosen, 1998 em Rebelo *et al.*, 2014).



**Figura 2.** Índice de abundância de *X. laevis* (IA; número de indivíduos capturados por minuto de pesca eléctrica) ao longo da extensão invadida da ribeira de Barcarena em 2014. No mapa que enquadra a extensão invadida da ribeira, o ponto indicado fora do rectângulo corresponde aos troços do Murganhal e da Pedreira Italiana, cujo IA foi inferior a 0.20.



Ao longo da extensão invadida da ribeira de Barcarena ocorrem quatro espécies de vertebrados aquáticos nativos que, dadas as suas dimensões e habitat, poderão ser afectadas por *X. laevis*. Estas são a rã-verde *Pelophylax perezi*, o verdemã-comum *Cobitis paludica*, a enguia-europeia *Anguilla anguilla* e a boga-portuguesa *Iberochondrostoma lusitanicum*, estando a enguia-europeia classificada como Em Perigo e o endemismo lusitano boga-portuguesa classificada como Criticamente em Perigo (Cabral *et al.*, 2005).

Apesar da dieta de *X. laevis* já ter sido estudada na ribeira da Laje (Amaral & Rebelo, 2012), a sua composição ainda não é conhecida na ribeira de Barcarena. Os possíveis impactos da espécie, quer por predação quer por competição, na estrutura das cadeias tróficas, tanto em Portugal como noutros países onde é invasora, também não foram investigados até à data. Considerando que a severidade dos impactos ecológicos tende a aumentar ao longo do tempo com o incremento do efectivo populacional invasor e da sua área de dispersão (Lodge *et al.*, 2006), torna-se particularmente relevante determinar se as espécies nativas estão a ser afectadas por *X. laevis* num contexto de invasão como o verificado em 2014.

## 2. Objectivos

Com a finalidade de averiguar os possíveis impactos tróficos de *X. laevis* na ribeira de Barcarena, onde em 2014 decorreu o maior episódio de invasão desta espécie até agora documentado em Portugal, o presente estudo teve como principais objectivos:

- [1] Determinar a composição da dieta da espécie, comparando os dois sexos e os estádios pré- e pós-maturação sexual;
- [2] Comparar a composição da dieta e o índice de repleção estomacal dos indivíduos entre diferentes anos e entre locais com diferentes abundâncias de *X. laevis* em 2014;
- [3] Comparar a estrutura da cadeia trófica entre locais da ribeira onde *X. laevis* apresentou uma elevada abundância e onde ainda não existem registos da sua presença, através da análise de isótopos estáveis;
- [4] Aferir o nível trófico de *X. laevis* e das espécies nativas *C. paludica*, *I. lusitanicum* e *A. anguilla* para avaliar a potencialidade de competição interespecífica;
- [5] Estimar o impacto predatório da população invasora (biomassa removida) em diferentes troços da ribeira utilizando taxas de consumo diário quantificadas em laboratório.

Os resultados deste trabalho poderão contribuir para a definição de medidas prioritárias de erradicação da espécie invasora e de medidas de conservação das espécies nativas potencialmente afectadas, assim como para a previsão de impactos em ecossistemas semelhantes noutros locais ou países.

### **3. Métodos**

#### **3.1. Área de estudo**

A ribeira de Barcarena, com uma extensão de aproximadamente 19.2 km, atravessa os concelhos de Sintra e Oeiras, tendo a sua nascente na serra da Carregueira (Sintra) e a foz no estuário do Tejo (Rebelo *et al.*, 2010; Figura 1). Situada numa região de clima temperado mediterrânico, apresenta uma reduzida amplitude térmica anual e uma elevada variabilidade da precipitação e do caudal entre anos (Kondolf *et al.*, 2010). A área da ribeira invadida por *X. laevis* tem uma extensão de 5.5 km, fluindo na maior parte do seu percurso por leitos estreitos com uma profundidade média de 40 cm (Vale, 2010), substrato rochoso a arenoso com elevada cobertura de macrófitas, e margens urbanizadas. A amostragem da espécie realizou-se em 12 troços desta área, indicados na figura 2 (coordenadas no Anexo I).

#### **3.2. Análise de conteúdos estomacais**

##### **3.2.1. Recolha de amostras**

Os exemplares de *X. laevis* foram capturados entre Junho e Agosto de 2014, no âmbito do plano de erradicação da espécie em Portugal. A captura foi efectuada através de pesca eléctrica, utilizando um aparelho de transporte dorsal SAMUS-725MS, com uma duração e frequência de corrente eléctrica dependentes da extensão e profundidade das áreas percorridas. Todos os animais foram armazenados individualmente, identificados relativamente ao troço e data de amostragem, e posteriormente transportados até à Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, onde foram eutanasiados e congelados num período máximo de 6 horas após a sua captura.

Para este estudo foi seleccionada aleatoriamente uma amostra de 352 indivíduos pós-metamorfoseados. Foi também utilizada uma amostra aleatória dos exemplares capturados nos verões de 2012 (35 indivíduos) e de 2013 (45 indivíduos).

### 3.2.2. Procedimento laboratorial

Cada exemplar foi pesado, medido (comprimento focinho-cloaca - *snout-vent lenght* – SVL) e dissecado para extracção e preservação dos estômagos em álcool (70%). O sexo dos animais foi determinado por observação directa das gónadas, procedimento seguido pela pesagem destas e do corpo gordo (órgão de reserva lipídica nos anfíbios).

O conteúdo de cada estômago foi removido com água destilada para uma placa de Petri e o seu peso foi obtido pela diferença entre os pesos do estômago cheio e após lavagem e secagem com papel absorvente. Este procedimento permitiu estimar o índice de repleção estomacal de cada indivíduo ( $IR = \text{peso do conteúdo estomacal} / \text{peso corporal} \times 100$ ; Hyslop, 1980), frequentemente utilizado como indicador da intensidade alimentar de peixes (Hyslop, 1980; Garrido *et al.*, 2008). Os conteúdos estomacais foram triados e todos os itens encontrados foram contados e identificados até ao menor nível taxonómico possível, com auxílio de um estereomicroscópio binocular e recurso às chaves taxonómicas de Chinery (1993), Gibb e Oseto (2006) e Tachet *et al.* (2006). Itens correspondentes a estruturas diagnosticantes separadas ou em conjuntos, como cabeças e asas, foram contados como indivíduos. Os itens intactos foram medidos (comprimento e largura) de forma a calcular o seu volume por aproximação a um elipsoide ( $V = 4/3\pi \times (\text{comprimento}/2) \times (\text{largura}/2)^2$ ; Dunham, 1983). Fragmentos de matéria vegetal, pedras e pele de *X. laevis* não foram quantificados nem medidos, tendo-se registado apenas a sua ocorrência.

### 3.2.3. Análise de dados

#### Descrição das amostras

O coeficiente de correlação de Spearman foi utilizado para aferir a relação entre o SVL dos animais e as seguintes variáveis: Peso; Peso das gónadas (para cada sexo em separado); Índice de condição corporal ( $ICC = \text{peso do corpo gordo} / \text{peso} \times 100$ ); Índice de repleção estomacal (IR); Número de itens ingeridos (número de itens em cada estômago); Volume do maior item ingerido (volume do maior item em cada estômago).

## Composição da dieta

Os itens identificados nos conteúdos estomacais foram agrupados em categorias taxonómicas, cuja contribuição para a dieta foi estimada com base nas seguintes métricas:

- i) Percentagem numérica (%N) - Quociente entre o número de itens pertencentes a uma categoria taxonómica e o número total de itens encontrados ( $\%N = N / n^{\circ} \text{ total de itens} \times 100$ );
- ii) Frequência de ocorrência (%FO) - Quociente entre o número de estômagos que continham uma categoria taxonómica e o número total de estômagos analisados, à excepção dos vazios ( $\%FO = O / n^{\circ} \text{ total de estômagos não vazios} \times 100$ );
- iii) Percentagem volumétrica (%V) - Quociente entre o volume de todos os itens de uma categoria taxonómica e o volume de todos os itens encontrados ( $\%V = V / \text{volume total} \times 100$ ). O volume total dos itens de cada categoria taxonómica foi calculado através do produto do número de itens pelo volume médio de todos os itens intactos dessa categoria.

Um índice de importância relativa (IRI) foi atribuído a cada categoria taxonómica a partir das métricas acima referidas ( $IRI = \%FO \times (\%N + \%V)$ ; Pinkas *et al.*, 1971).

As categorias taxonómicas foram depois distribuídas por 4 grupos (Bentos, Plancton, Necton e Terrestres), tendo em conta o habitat em que são normalmente encontradas e, conseqüentemente, o mecanismo de predação de *X. laevis* (Measey, 1998). Pele, matéria vegetal, pedras, materiais artificiais e itens não identificados foram englobados num grupo denominado Outros, não tendo sido considerados no cálculo dos índices de caracterização e comparação de nichos tróficos mencionados em seguida.

A diversidade da dieta foi determinada através do índice de Shannon-Wiener ( $H'$ ), cujo valor varia entre 0 e o número total de categorias taxonómicas, e do índice de equitabilidade de Pielou ( $J'$ ), cujo valor varia entre 0 e 1, que revela a distribuição dos itens consumidos pelo número de categorias taxonómicas encontradas (Krebs, 1999).

A amplitude do nicho trófico, indicadora da especialização da dieta, foi medida através do índice de Levins padronizado ( $B_A$ ) (Krebs, 1999). Este índice apresenta valores num intervalo de 0 a 1, respectivamente correspondentes a um regime especialista e a um regime generalista. Valores próximos de 0 traduzem um consumo de poucas categorias taxonómicas em maiores quantidades enquanto valores próximos de 1 revelam um consumo de todas as categorias em proporções similares.

O índice de Morisita-Horn ( $C_H$ ) (Krebs, 1999) foi utilizado para estimar a sobreposição de nichos tróficos, sendo o seu valor (0 a 1) tanto maior quanto maior a sobreposição. As fórmulas dos índices aplicados encontram-se na tabela 1.

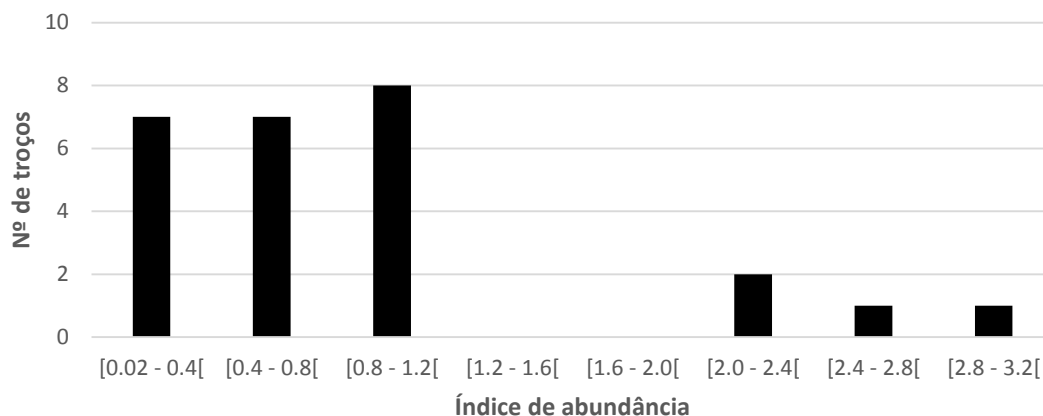
**Tabela 1.** Fórmulas dos índices de caracterização do nicho trófico.  $p_i$  - proporção numérica da categoria taxonómica  $i$ ;  $S$  - número total de categorias taxonómicas;  $B$  - Índice de Levins ( $B = 1 / \sum p_i^2$ );  $p_{ij}$  - proporção numérica da categoria taxonómica  $i$  consumida pelo grupo  $j$ ;  $p_{ik}$  = proporção numérica da categoria taxonómica  $i$  consumida pelo grupo  $k$ .

Índice	Fórmula
Shannon-Wiener ( $H'$ )	$H' = - \sum p_i (\ln p_i)$
Equitabilidade de Pielou ( $J'$ )	$J' = H' / \ln S$
Levins padronizado ( $B_A$ )	$B_A = B - 1 / S - 1$
Morisita-Horn ( $C_H$ )	$C_H = 2 \sum (p_{ij} \times p_{ik}) / \sum p_{ij}^2 + \sum p_{ik}^2$

Para além da análise da composição da dieta em 2014, foram realizadas comparações entre sexos e entre juvenis e adultos. As fêmeas foram classificadas como adultas a partir de um SVL de 56.5 mm e os machos a partir de um SVL de 52.3 mm, de acordo com a bibliografia (McCoid & Fritts, 1989; Measey, 2001) e com os valores de SVL a partir dos quais os indivíduos de cada sexo começaram a apresentar um maior desenvolvimento das gónadas (Marques, dados não publicados).

A composição da dieta foi também comparada entre anos (2012, 2013 e 2014) e entre locais com abundâncias de *X. laevis* intermédias e elevadas em 2014. Nesta última comparação os indivíduos foram agrupados com base no índice de abundância (IA) de *X. laevis* nos troços da ribeira onde foram capturados (IA = número de indivíduos capturados / minuto de pesca eléctrica; Rebelo *et al.*, 2014), tendo-se definido que uma

abundância intermédia compreendia valores de IA entre 0.02 e 1.2 e que uma abundância elevada compreendia valores de IA entre 2 e 3.2 (Figura 3).



**Figura 3.** Distribuição do número de troços da ribeira onde ocorreram capturas de *X. laevis* por índice de abundância (número de indivíduos capturados por minuto de pesca eléctrica) na data de amostragem. Alguns dos 12 troços amostrados foram visitados em diferentes datas, nas quais apresentaram diferentes índices de abundância, e foram portanto considerados mais do que uma vez.

A relação entre o índice de abundância de *X. laevis* e as variáveis índice de repleção estomacal e número de itens ingeridos foi aferida através do coeficiente de correlação de Spearman.

Possíveis diferenças no índice de repleção estomacal e no número de itens ingeridos entre grupos foram testadas através de modelos lineares generalizados (GLZs), utilizando o Sexo (2 níveis), Estádio de vida (2 níveis – juvenil/adulto) e Ano (3 níveis – 2012, 2013 e 2014) como factor. O SVL foi utilizado como covariável no teste de efeitos no número de itens ingeridos, uma vez que foi encontrada uma relação significativa entre estas duas variáveis (ver resultados – ponto 4.1.1.).

A representatividade da dimensão da amostra de 2014, consideravelmente maior do que as amostras de 2012 e 2013, foi avaliada através de uma curva de rarefacção do número de categorias taxonómicas encontradas pelo número de estômagos examinados (D'Aguillo *et al.*, 2014). Esta curva foi construída com recurso ao programa EstimateS (versão 9.1.0), mediante 100 amostragens aleatórias dos 352 estômagos.

### 3.3. Análise de isótopos estáveis

#### 3.3.1. Recolha de amostras

A recolha de amostras foi efectuada a jusante da ribeira de Barcarena, onde *X. laevis* ocorreu em elevada abundância em 2014, e a montante, onde ainda não existem registos de presença da espécie (Rebelo *et al.*, 2014), entre Julho e Outubro de 2014. A escolha dos componentes amostrados em cada um dos locais (tabela 2) baseou-se nos seguintes factores: Abundância nos locais de estudo, estimada através de uma amostragem preliminar; Importância para a dieta de *X. laevis* em Portugal (Amaral & Rebelo, 2012); Possível competição com *X. laevis* por recursos, no caso dos peixes. Foram também recolhidas amostras da matéria orgânica do bentos.

**Tabela 2.** Componentes das cadeias tróficas amostrados e respectivos níveis tróficos.

Componente	Nível trófico
<i>Xenopus laevis</i>	Consumidor secundário
<i>Iberochondrostoma lusitanicum</i>	Consumidor secundário
<i>Cobitis paludica</i>	Consumidor secundário
<i>Anguilla anguilla</i>	Consumidor secundário
<i>Pelophylax perezi</i> - Adultos	Consumidor secundário
<i>Pelophylax perezi</i> - Girinos	Consumidor primário
<i>Procambarus clarkii</i>	Consumidor primário e secundário
Quironomídeos - Larvas	Consumidor primário
Efémeras - Larvas	Consumidor primário
Anelídeos ( <i>Lumbricus sp.</i> )	Consumidor primário
Gastrópodes pulmonados	Consumidor primário
Matéria orgânica do bentos	Fonte de Carbono e Azoto

As rãs (*X. laevis* e *P. perezi*), peixes (*I. lusitanicum*, *C. paludica* e *A. anguilla*) e lagostins (*P. clarkii*) foram capturados com pesca eléctrica, os anelídeos e gastrópodes foram manualmente removidos do solo e de rochas, as larvas de quironomídeos e de efémeras foram colhidas com redes de mão de arrasto em zonas de água corrente, e as amostras de matéria orgânica do bentos foram extraídas com *cores*. Devido a restrições



financeiras, optou-se pela realização de uma análise preliminar de um número reduzido de amostras.

### 3.3.2. Procedimento laboratorial

Após eutanásia por imersão em solução de MS222 (0.1%), rãs, peixes e lagostins foram dissecados para extracção de amostras de músculo (tecido com uma taxa de *turnover* de semanas a meses, adequado para o estudo da dieta; Peterson & Fry, 1987). Os restantes invertebrados foram triados, identificados e agrupados, depois de um período de jejum de 24 horas para evacuação do conteúdo existente no sistema digestivo. As conchas dos gastrópodes foram removidas dada a sua composição em carbonato de cálcio e consequente enriquecimento em  $^{13}\text{C}$ . Após pesagem e secagem em estufa a  $60^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas, as amostras foram homogeneizadas em pó e deslipidificadas com uma solução de clorofórmio-metanol (2:1), devido ao empobrecimento dos lípidos em  $^{13}\text{C}$ , em comparação com outros macronutrientes, e à variabilidade da sua proporção na composição dos tecidos animais (Peterson & Fry, 1987). Todas as amostras foram posteriormente secas (24h a  $60^{\circ}\text{C}$ ), pesadas (aproximadamente 1 mg) e armazenadas em cápsulas de estanho individuais.

Os rácios de isótopos estáveis de carbono ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) e de azoto ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) foram aferidos através de espectrometria de massa de razões isotópicas (IRMS) no *Stable Isotopes and Instrumental Analysis Facility* (SIIAF) do Centro de Ecologia, Evolução e Alterações Ambientais (cE3c, FCUL). Os valores obtidos são expressos na notação  $\delta$ , em partes por mil (‰), e representam a diferença entre o rácio de isótopos estáveis das amostras e a referência padrão internacional (Vienna PeeDee Belemnite para o  $\delta^{13}\text{C}$  e azoto atmosférico para o  $\delta^{15}\text{N}$ ).

### 3.3.3. Análise de dados

A estrutura das cadeias tróficas foi representada por gráficos bidimensionais  $\delta^{13}\text{C}$ - $\delta^{15}\text{N}$  com as coordenadas isotópicas (média  $\pm$  desvio padrão) de cada componente. Possíveis diferenças nas assinaturas isotópicas de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  entre *X. laevis* e as

espécies de peixes nativas foram testadas através do teste t ou do teste de Mann-Whitney, em função da normalidade e homocedasticidade dos dados.

Os níveis tróficos de *X. laevis*, *I. lusitanicum*, *C. paludica* e *A. anguilla* foram calculados por comparação dos valores médios de  $\delta^{15}\text{N}$  obtidos para cada espécie com o valor médio de  $\delta^{15}\text{N}$  obtido para um consumidor primário comum na mesma ribeira, através da fórmula proposta por Vander Zaden *et al.* (1997):

$$\text{Nível trófico} = 2 + (\delta^{15}\text{N Cons. secundário} - \delta^{15}\text{N Cons. primário}) / 3.4,$$

onde 2 representa o nível trófico do consumidor primário e 3.4 (‰) representa o enriquecimento em  $\delta^{15}\text{N}$  por nível trófico (Post, 2002; Anderson & Cabana, 2007).

### 3.4. Teste de consumo

#### 3.4.1. Procedimento laboratorial

Para o teste de consumo foram utilizadas 60 rãs, capturadas durante o período de amostragem e segundo os métodos referidos no ponto 3.2.1. e mantidas no biotério da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa. Estas foram seleccionadas com base no seu peso de modo a garantir uma distribuição representativa da amostra por 8 classes (<10 g, 10-20 g, 20-30 g, 30-40 g, 40-50 g, 50-60 g, 60-70 g,  $\geq 70$  g) (Tabela 3).

**Tabela 3.** Número de indivíduos utilizados por classe de peso no teste de consumo e respectivo rácio sexual. M – Machos; F – Fêmeas.

Classe de peso	Nº de indivíduos	Rácio sexual
<10 g	8	Sexo indeterminado
10-20 g	8	4M:4F
20-30 g	8	4M:4F
30-40 g	8	4M:4F
40-50 g	8	2M:6F
50-60 g	6	3M:3F
60-70 g	6	2M:4F
$\geq 70$ g	8	0M:8F

Os animais foram mantidos em aquários individuais de 37x25x28 cm com água canalizada sem cloro (volume de 3 a 6 L, dependente do tamanho dos indivíduos), numa sala à temperatura de 20°C e com fotoperíodo controlado (12 horas de iluminação artificial: 12 horas de escuridão) (Reed, 2005). Os aquários foram enriquecidos com objectos flutuantes e túneis opacos de plástico. Todos os indivíduos foram alimentados três vezes por semana com *sticks* para tartaruga ASTRA REPTILIA® (Reed, 2005) e submetidos a um período de jejum nas 48 horas anteriores ao início da experiência.

Durante a experiência as rãs foram alimentadas com anelídeos (*Lumbricus sp.*), escolha justificada pela ocorrência na dieta de *X. laevis* em Portugal (Amaral & Rebelo, 2012) e em outros países (Schoonbee *et al.*, 1992; Measey, 1998), pela presença na ribeira de Barcarena (obs. pess.) e pela fácil obtenção comercial e quantificação à unidade.

O teste de consumo foi constituído por 18 séries contínuas de 24 horas, realizadas em Novembro de 2014. No início de cada série forneceu-se a cada indivíduo um número de minhocas dependente da sua classe de peso. Este número foi estipulado com base nos resultados de ensaios de consumo preliminares, de forma a garantir o consumo *ad libitum* (DuRant & Hopkins, 2008). As presas não consumidas foram removidas no final de cada série, tendo sido quantificadas no final dos períodos de iluminação e de escuridão, ou seja, 12 e 24h após o seu fornecimento. O peso fresco (g) do número de minhocas ingeridas foi estimado a partir do peso fresco médio de amostras individuais de minhocas.

### **3.4.2. Análise de dados**

Foram determinados os consumos médios diários, os consumos totais durante a experiência e os consumos máximos, sendo os últimos correspondentes à maior quantidade de presas ingerida numa das séries de 24 horas. Para o cálculo do consumo médio diário de cada indivíduo foram considerados os consumos em todos os dias da experiência, à excepção do primeiro.

O coeficiente de correlação de Spearman foi utilizado para analisar a relação entre os consumos médio diário, total e máximo e o peso dos indivíduos. A relação entre o consumo médio diário e o peso foi testada através de uma regressão linear.

Possíveis diferenças nos consumos entre machos e fêmeas foram testadas através de GLZs. Estes incluíram o consumo (médio diário, total ou máximo) como variável dependente, o sexo como factor (2 níveis) e o peso como covariável. Os consumos médios verificados durante os períodos de iluminação e de escuridão foram comparados com o teste de Wilcoxon para amostras emparelhadas.

Com base no modelo do consumo médio diário por indivíduo obtido através da regressão linear, efectuou-se uma estimativa da biomassa consumida diariamente pela população invasora em 5 troços da ribeira de Barcarena. Para tal foram utilizadas as estimativas de Rebelo *et al.* (2014) do número total de animais existentes em cada troço no início da Primavera de 2014 e estimativas da sua distribuição por classes de peso, baseadas na distribuição de pesos de uma amostra de cada troço (60 a 135 indivíduos).

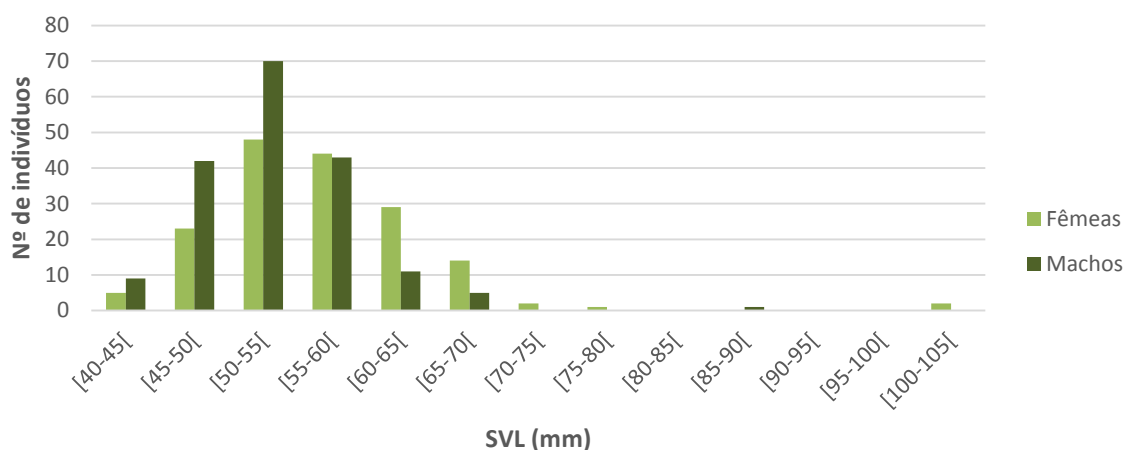
As análises estatísticas foram realizadas com recurso aos programas Microsoft Office Excel 2013 e IBM SPSS Statistics (versão 22.0), considerando um nível de significância de 0.05. Os dados de proporções foram transformados com a relação arcoseno da raiz quadrada. Os pressupostos de normalidade e homocedasticidade dos dados foram verificados respectivamente com o teste de Shapiro-Wilk e o teste de Levene. Nos GLZs aplicados para testar efeitos de factores com mais de 2 níveis, as diferenças entre níveis foram determinadas através de comparações múltiplas com o nível de significância ajustado pelo método sequencial de Bonferroni.

## 4. Resultados

### 4.1. Dieta

#### 4.1.1. Descrição das amostras

A amostra de 2014 foi composta por 168 fêmeas (SVL médio =  $56.76 \pm 8.14$  mm) e 181 machos (SVL médio =  $53.27 \pm 5.79$  mm) (Figura 4), não tendo sido possível determinar o sexo de 3 indivíduos. Relativamente ao estágio de vida, foram identificados 184 juvenis (SVL médio =  $50.18 \pm 3.41$  mm) e 168 adultos (SVL médio =  $59.99 \pm 6.90$  mm).



**Figura 4.** Distribuição do tamanho corporal (SVL) por sexo na amostra de 2014.

A amostra de 2012 foi constituída por 20 fêmeas (SVL médio =  $81.69 \pm 12.82$  mm) e 15 machos (SVL médio =  $67.63 \pm 6.81$  mm) e a amostra de 2013 por 25 fêmeas (SVL médio =  $73.82 \pm 8.87$  mm), 18 machos (SVL médio =  $64.81 \pm 5.87$  mm) e 2 indivíduos de sexo indeterminado. Ambas continham um número reduzido de juvenis (4 e 7, respectivamente).

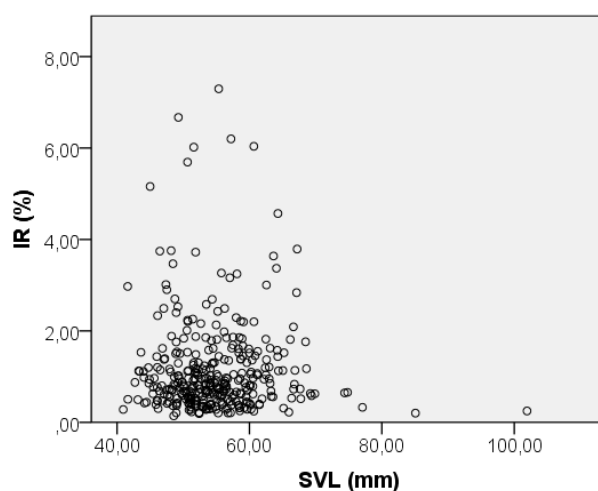
As medidas morfométricas das amostras de 2012, 2013 e 2014 encontram-se na tabela 4. O SVL verificou-se positiva e significativamente correlacionado com o peso corporal e com o peso das gónadas (para ambos os sexos) em todos os anos e com o índice de condição corporal em 2014 (Tabela 5). Não foi observada qualquer correlação significativa entre o SVL e o índice de repleção estomacal (Figura 5), existindo contudo correlações significativas com o número de itens ingeridos em 2013 e com o volume da maior presa ingerida em 2012 e 2014 (Tabela 5).

**Tabela 4.** Morfometrias (média  $\pm$  desvio padrão) das amostras de 2012, 2013 e 2014. ICC – Índice de condição corporal.

	2012	2013	2014
<b>SVL (mm)</b>	75.66 ( $\pm$ 12.68)	68.74 ( $\pm$ 10.63)	54.86 ( $\pm$ 7.27)
<b>Peso (g)</b>	64.95 ( $\pm$ 34.89)	45.61 ( $\pm$ 20.82)	23.82 ( $\pm$ 13.00)
<b>Corpo gordo (g)</b>	0.59 ( $\pm$ 0.75)	1.05 ( $\pm$ 0.88)	0.47 ( $\pm$ 0.45)
<b>ICC (%)</b>	0.86 ( $\pm$ 0.73)	2.25 ( $\pm$ 1.43)	1.88 ( $\pm$ 1.17)

**Tabela 5.** Coeficientes de correlação de Spearman ( $r_s$ ), e  $p$ -values associados, entre o SVL e outras morfometrias, índice de repleção estomacal (IR), número de itens ingeridos e volume da maior presa ingerida em 2012, 2013 e 2014. As correlações estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) encontram-se assinaladas a negrito. ICC – Índice de condição corporal.

		SVL (mm)		
		2012	2013	2014
<b>Peso (g)</b>	$r_s$	0,925	0,950	0,894
	$p$ -value	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Peso das gónadas (g) - Fêmeas</b>	$r_s$	0,781	0,775	0,532
	$p$ -value	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Peso das gónadas (g) - Machos</b>	$r_s$	0,962	0,879	0,617
	$p$ -value	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,0001</b>
<b>ICC (%)</b>	$r_s$	0,066	-0,009	0,193
	$p$ -value	0,705	0,954	<b>&lt;0,0001</b>
<b>IR (%)</b>	$r_s$	0,078	-0,109	0,013
	$p$ -value	0,658	0,478	0,803
<b>Nº de itens ingeridos</b>	$r_s$	-0,038	-0,380	-0,026
	$p$ -value	0,830	<b>0,010</b>	0,622
<b>Volume da maior presa ingerida</b>	$r_s$	0,505	0,254	0,301
	$p$ -value	<b>0,012</b>	0,129	<b>&lt;0,0001</b>



**Figura 5.** Relação entre o índice de repleção estomacal e o SVL na amostra de 2014.

#### 4.1.2. Composição da dieta em 2014

A análise dos conteúdos estomacais dos animais capturados em 2014 permitiu identificar 8614 itens pertencentes a 53 categorias taxonômicas (Tabela 6). Apesar de 11 estômagos possuírem apenas material digerido sem itens identificáveis, não foram encontrados indivíduos com estômagos completamente vazios.

**Tabela 6.** Composição da dieta de *X. laevis* na ribeira de Barcarena em 2014. N – Número de itens; %N – Percentagem numérica; %FO – Frequência de ocorrência; %V – Percentagem volumétrica; IRI – Índice de importância relativa; NI – Não identificado.

<b>Categoria taxonômica</b>	<b>Estádio</b>	<b>N</b>	<b>%N</b>	<b>%FO</b>	<b>%V</b>	<b>IRI</b>
<b>Bentos</b>						
<b>Ephemeroptera</b>						
Baetidae	Larva	3890	45.16	50.73	24.76	3547.45
Caenidae	Larva	1102	12.79	38.71	11.89	955.30
NI	Larva	6	0.07	1.76	-	0.12
<b>Diptera</b>						
Chironomidae	Larva	1144	13.28	52.20	2.48	822.69
Simuliidae	Larva	73	0.85	3.23	0.16	3.26
Tipulidae	Larva	5	0.06	1.17	0.18	0.28
Syrphidae	Larva	3	0.03	0.88	0.36	0.34
Psychodidae	Larva	2	0.02	0.59	-	0.01
NI	Larva	2	0.02	0.59	0.06	0.05
	Pupa	84	0.98	12.32	0.42	17.16
<b>Trichoptera</b>						
Hydroptilidae	Larva	169	1.96	25.22	0.92	72.80
Hydropsychidae	Larva	20	0.23	5.28	0.77	5.30
NI	Larva	44	0.51	9.97	0.39	9.01
<b>Coleoptera</b>						
Dryopidae	Adulto	11	0.13	2.64	0.17	0.78
Dytiscidae	Larva	3	0.03	0.29	0.00	0.01
Halplidae	Adulto	4	0.05	1.17	0.03	0.09
Hydrophilidae	Adulto	14	0.16	1.76	0.64	1.42
	Larva	1	0.01	0.29	0.01	0.01
Helophoridae	Adulto	1	0.01	0.29	0.01	0.01
NI	Adulto	3	0.03	0.59	-	0.02
	Larva	1	0.01	0.29	-	0.00
<b>Hemiptera</b>						
Corixidae	Adulto	1	0.01	0.29	-	0.00
<b>Odonata</b>						
Libellulidae	Larva	4	0.05	1.17	0.39	0.52
<b>Gastropoda</b>						
Prosobranchia		823	9.55	43.70	10.76	887.47
Pulmonata						
Physidae		343	3.98	12.32	29.41	411.28
Ancylidae		115	1.34	19.65	3.87	102.23
Lymnaeidae		10	0.12	2.35	1.40	3.55
Planorbidae		2	0.02	0.29	-	0.01
NI		3	0.03	0.88	-	0.03

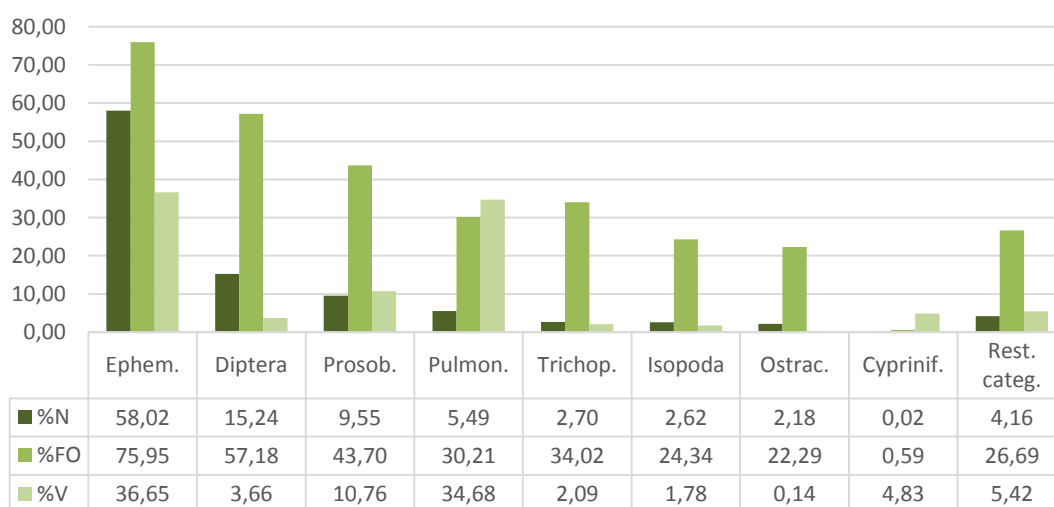
**Tabela 6 (Continuação).** Composição da dieta de *X. laevis* na ribeira de Barcarena em 2014. N – Número de itens; %N – Percentagem numérica; %FO – Frequência de ocorrência; %V – Percentagem volumétrica; IRI – Índice de importância relativa; NI – Não identificado.

<b>Categoria taxonômica</b>	<b>Estádio</b>	<b>N</b>	<b>%N</b>	<b>%FO</b>	<b>%V</b>	<b>IRI</b>
<b>Bivalvia</b>		4	0.05	1.17	0.08	0.14
<b>Decapoda</b>						
<i>Procambarus clarkii</i>		5	0.06	1.17	-	0.07
<b>Isopoda</b>						
Asellidae		226	2.62	24.34	1.78	107.20
<b>Amphipoda</b>		4	0.05	0.88	0.05	0.08
<b>Acariformes</b>						
Hydrachnidae		4	0.05	1.17	0.00	0.06
<b>Arhynchobdellida</b>						
Hirudinidae		4	0.05	1.17	0.99	1.21
<b>Cypriniformes</b>						
NI	Ovo	71	0.82	0.59	0.03	0.50
<b>Anura</b>						
<i>Pelophylax perezii</i>	Ovo	142	1.65	0.88	0.57	1.95
<b>Plancton</b>						
<b>Ostracoda</b>		188	2.28	22.29	0.14	51.86
<b>Necton</b>						
<b>Cypriniformes</b>						
<i>Cobitis paludica</i>	Adulto	1	0.01	0.29	4.83	1.42
NI	Adulto	1	0.01	0.29	-	0.00
<b>Anura</b>						
<i>Xenopus laevis</i>	Girino	1	0.01	0.29	-	0.00
<b>Terrestre</b>						
<b>Aves</b>						
NI (pena)		1	0.01	0.29	-	0.00
<b>Arachnida</b>		4	0.05	1.17	0.07	0.14
<b>Ephemeroptera</b>	Adulto	21	0.24	2.35	-	0.57
<b>Diptera</b>	Adulto	3	0.03	0.59	-	0.02
<b>Trichoptera</b>	Adulto	2	0.02	0.59	-	0.01
<b>Hemiptera</b>	Adulto	9	0.10	2.05	0.07	0.36
<b>Hymenoptera</b>						
Formicidae	Adulto	7	0.08	2.05	-	0.17
NI	Adulto	7	0.08	1.76	0.32	0.71
<b>Isopoda</b>		3	0.03	0.88	0.53	0.49
<b>Diplopoda</b>		1	0.01	0.29	0.06	0.02
<b>Geophilomorpha</b>		1	0.01	0.29	-	0.00
<b>Oligochaeta</b>						
Lumbricidae		2	0.02	0.59	1.40	0.84
<b>Outros</b>						
NI		14	0.16	3.52	-	0.57
Materiais artificiais		5	0.06	1.47	-	0.09
Matéria vegetal				39.88		
Pedras				54.25		
Pele – <i>X. laevis</i>				5.57		
<b>Total</b>		8614	100		100	



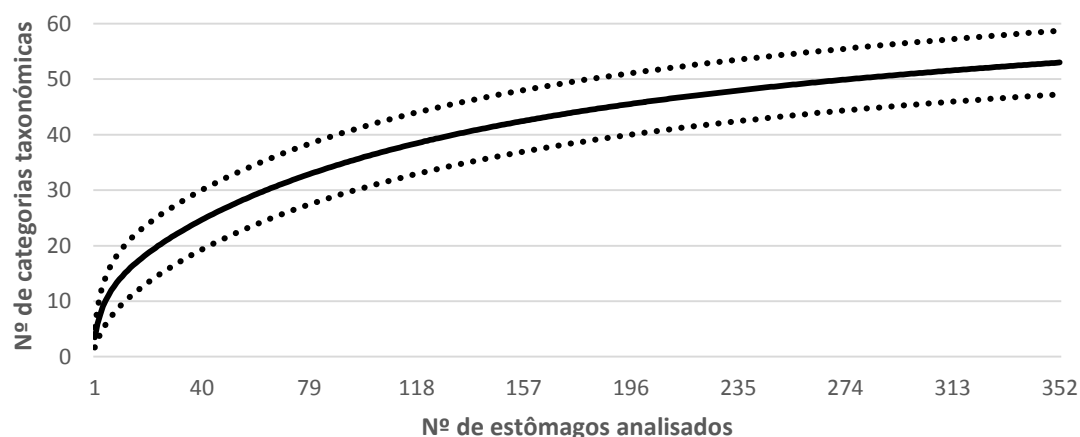
A dieta foi predominantemente constituída por presas bentônicas, maioritariamente representadas pelas ordens Ephemeroptera e Diptera e pela classe Gastropoda (subclasses Prosobranchia e Pulmonata) em todas as métricas calculadas (Figura 6). A maior percentagem numérica dos itens consumidos correspondeu a larvas de efémeras Baetidae (45.16%), seguidas por larvas de dípteros Chironomidae (13.28%), larvas de efémeras Caenidae (12.79%) e gastrópodes Prosobranchia (9.55%). No entanto, os quironomídeos foram os itens mais frequentes, tendo sido encontrados em 52.20% dos estômagos, seguidos pelos baetídeos (50.73%), prosobrânquios (43.70%) e caenídeos (38.71%). As principais contribuições volumétricas corresponderam aos gastrópodes Physidae (29.41%), larvas de efémeras Baetidae (24.76%) e Caenidae (11.89%), e gastrópodes Prosobranchia (10.76%). Tendo em conta todas as métricas, os maiores valores de IRI foram atribuídos às categorias Baetidae (3547.45), Caenidae (955.30), Prosobranchia (887.47), Chironomidae (822.69) e Physidae (411.28).

Foram também observadas consideráveis frequências de ocorrência das ordens Trichoptera, Isopoda e Ostracoda e uma importante contribuição volumétrica de Cypriniformes, em comparação com as restantes categorias taxonómicas (Figura 6). O consumo de presas terrestres foi pouco frequente (11.73%), representando apenas 0.71% do número total de itens e 2.45% do volume da dieta.



**Figura 6.** Percentagem numérica (%N), frequência de ocorrência (%FO) e percentagem volumétrica (%V) das principais ordens e subclasses consumidas em 2014.

Apesar da curva de rarefacção do número de categorias taxonómicas encontradas começar a estabilizar aproximadamente a partir dos 150 estômagos analisados (Figura 7), a dimensão da amostra (n=352) não terá sido representativa da totalidade da riqueza da dieta dado parecer ser necessário um maior número de unidades amostrais para uma estabilização completa.



**Figura 7.** Curva de rarefacção do número de categorias taxonómicas encontradas em função do número de estômagos analisados (amostra de 2014), com intervalos de confiança de 95% a tracejado.

#### 4.1.2.1. Comparação entre fêmeas e machos

A comparação da composição da dieta dos dois sexos revelou uma ingestão de um maior número de itens e de categorias taxonómicas por parte das fêmeas (Tabela 7). Estas ingeriram em média mais presas do que os machos (GLZ,  $X^2=5,714$ ;  $p=0,017$ ), exibindo também um maior índice de repleção estomacal (GLZ,  $X^2=10,572$ ;  $p=0,001$ ).

**Tabela 7.** Número de itens e de categorias taxonómicas ingeridos por sexo.

	Itens (n)	C. taxonómicas (n)
<b>Fêmeas (n=168)</b>	5422	46
<b>Machos (n=181)</b>	3177	41

Para as fêmeas, as maiores percentagens numéricas e frequências de ocorrência foram observadas para itens das ordens Ephemeroptera e Diptera e da classe Gastropoda, registrando-se uma maior contribuição volumétrica de gastrópodes Pulmonata, seguidos pelos Ephemeroptera (Figura 8a). Entre machos, os Ephemeroptera representaram a principal ordem em todas as métricas avaliadas, seguidos pelos Diptera em número e em frequência e dos Gastropoda (Prosobranchia e Pulmonata) em volume (Figura 8b).



**Figura 8.** Percentagem numérica (%N), frequência de ocorrência (%FO) e percentagem volumétrica (%V) das principais ordens e subclasses consumidas por fêmeas (a) e machos (b).

Em ambos os casos, as larvas das famílias Baetidae, Caenidae e Chironomidae foram responsáveis pela maior percentagem numérica de itens, apesar da maior frequência de ocorrência ter sido registrada para os quironomídeos (Tabela 8). Volumetricamente, a dieta das fêmeas apresentou uma maior contribuição de

gastrópodes Physidae (40.26%), seguidos por larvas de Baetidae (23.40%) e Caenidae (11.23%), enquanto a dieta dos machos teve uma distribuição mais equilibrada pelas categorias Baetidae (27.68%), Prosobranchia (14.09%) e Caenidae (13.18%). As presas mais importantes para os dois sexos pertenceram às categorias Baetidae, Caenidae, Prosobranchia e Chironomidae, salientando-se um elevado IRI dos Physidae para as fêmeas que não se regista para os machos (Tabela 8).

**Tabela 8.** Percentagem numérica (%N), frequência de ocorrência (%FO), percentagem volumétrica (%V) e índice de importância relativa (IRI) das principais categorias taxonómicas consumidas por sexo.

C. taxonómica	Fêmeas				Machos			
	%N	%FO	%V	IRI	%N	%FO	%V	IRI
<b>Ephemeroptera</b>								
Baetidae	46.53	53.05	23.40	3662.14	44.57	49.43	27.68	3571.02
Caenidae	12.93	36.59	11.23	884.04	12.53	40.80	13.18	1049.02
<b>Diptera</b>								
Chironomidae	12.26	53.66	2.14	773.05	14.89	50.57	3.15	912.19
<b>Trichoptera</b>								
Hydroptilidae	1.72	27.44	0.76	67.82	2.39	23.56	1.28	86.46
<b>Gastropoda</b>								
Prosobranchia	8.71	47.56	9.17	850.02	11.05	40.80	14.09	1025.60
Physidae	5.83	18.29	40.26	843.14	0.85	6.90	7.11	54.89
<b>Isopoda</b>								
Asellidae	2.12	25.61	1.25	88.80	3.49	23.56	2.69	145.61

Os valores dos índices de caracterização do nicho trófico de fêmeas e machos são similares (Tabela 9), indicando dietas especialistas, com uma diversidade reduzida e uma utilização pouco equitativa de todas as categorias taxonómicas que consomem. O índice de Morisita-Horn apresenta um valor de 0.99, revelando uma sobreposição quase total dos nichos tróficos de ambos os sexos.

**Tabela 9.** Valores dos índices de Levins padronizado ( $B_A$ ), Shannon-Wiener ( $H'$ ), equitabilidade de Pielou ( $J'$ ) e Morisita-Horn ( $C_H$ ) dos nichos tróficos de fêmeas e machos.

Índices	Fêmeas	Machos
$B_A$	0.07	0.07
$H'$	1.91	1.88
$J'$	0.50	0.51
$C_H$	0.99	

#### 4.1.2.2. Comparação entre juvenis e adultos

A distribuição dos itens foi relativamente equilibrada por juvenis e adultos, como indicado pela inexistência de diferenças significativas no número de itens ingeridos (GLZ,  $X^2=0,564$ ;  $p=0,452$ ), apesar de se verificar uma maior riqueza na dieta dos adultos (Tabela 10). O estágio de vida também não parece ter influenciado o índice de repleção estomacal dos animais (GLZ,  $X^2=0,076$ ;  $p=0,783$ ).

**Tabela 10.** Número de itens e de categorias taxonómicas ingeridos por estágio de vida.

	Itens (n)	C. taxonómicas (n)
<b>Juvenis (n=184)</b>	4103	41
<b>Adultos (n=168)</b>	4511	45

Quer em número, quer em frequência, ambos os grupos alimentaram-se preponderantemente de efemerópteros, dípteros e gastrópodes (Figura 9; Tabela 11). A principal diferença na dieta entre estádios de vida residiu na contribuição volumétrica dos seus constituintes, maioritariamente representada por larvas de efémeras Baetidae (32.17%), seguidas por gastrópodes prosobrânquios (18.36%) e por larvas de efémeras Caenidae (15.79%), no caso dos juvenis e por gastrópodes pulmonados Physidae (41.57%), seguidos por larvas de Baetidae (20.77%) e de Caenidae (9.78%), no caso dos adultos. Os Baetidae constituíram a categoria taxonómica mais importante tanto para juvenis (IRI=3744.70) como para adultos (IRI=3517.17), seguidos pelos Prosobranchia (IRI=1459.31), Caenidae (IRI=1144.26) e Chironomidae (IRI=962.89) no primeiro grupo e pelos Caenidae (IRI=823.24), Physidae (IRI=829.75) e Chironomidae (IRI=718.97) no segundo.



**Figura 9.** Percentagem numérica (%N), frequência de ocorrência (%FO) e percentagem volumétrica (%V) das principais ordens e subclasses consumidas por juvenis (a) e adultos (b).

**Tabela 11.** Percentagem numérica (%N), frequência de ocorrência (%FO), percentagem volumétrica (%V) e índice de importância relativa (IRI) das principais categorias taxonômicas ingeridas por estágio de vida.

C. taxonômica	Juvenis				Adultos			
	%N	%FO	%V	IRI	%N	%FO	%V	IRI
<b>Ephemeroptera</b>								
Baetidae	43.14	49.73	32.17	3744.70	47.00	51.90	20.77	3517.17
Caenidae	12.50	40.44	15.79	1144.26	13.06	36.71	9.78	838.24
<b>Diptera</b>								
Chironomidae	15.11	50.82	3.84	962.89	11.62	53.80	1.75	718.97
<b>Trichoptera</b>								
Hydroptilidae	2.02	23.50	1.30	78.00	1.91	27.22	0.72	71.60
<b>Gastropoda</b>								
Prosobranchia	11.99	48.09	18.36	1459.31	7.34	38.61	6.66	540.36
Physidae	0.68	8.20	6.85	61.77	6.98	17.09	41.57	829.75
<b>Isopoda</b>								
Asellidae	2.46	24.04	2.27	113.81	2.77	24.68	1.52	105.82

A dieta de ambos os estádios de vida parece ser especializada num reduzido número de categorias taxonómicas que englobam a maior proporção dos itens ingeridos (Tabela 12). A elevada sobreposição dos nichos tróficos ( $C_H = 0.98$ ) corrobora as similaridades anteriormente registadas.

**Tabela 12.** Valores dos índices de Levins padronizado ( $B_A$ ), Shannon-Wiener ( $H'$ ), equitabilidade de Pielou ( $J'$ ) e Morisita-Horn ( $C_H$ ) dos nichos tróficos de juvenis e adultos.

<b>Índices</b>	<b>Juvenis</b>	<b>Adultos</b>
<b><math>B_A</math></b>	0.08	0.06
<b><math>H'</math></b>	1.88	1.88
<b><math>J'</math></b>	0.51	0.49
<b><math>C_H</math></b>	0.98	

#### 4.1.3. Comparação da dieta entre 2012, 2013 e 2014

O número de itens e de categorias taxonómicas identificados nos conteúdos estomacais das amostras de 2012, 2013 e 2014 encontra-se na tabela 13. Houve diferenças significativas no número de itens ingeridos por indivíduo entre os 3 anos analisados (GLZ,  $X^2_2=12,949$ ;  $p=0,002$ ), sendo este superior em 2012 comparativamente a 2014 ( $p=0,003$ ). Todavia, não foram observadas diferenças significativas no índice de repleção estomacal (GLZ,  $X^2_2=3,523$ ;  $p=0,172$ ).

Observou-se uma ocorrência frequente de fragmentos de pedras (aprox. 40 a 55%) e de matéria vegetal (aprox. 30 a 60%) nos conteúdos estomacais em todos os anos e um consumo mais frequente de pele em 2012 (23.53%) em comparação com 2013 (16.28%) e 2014 (5.57%).

**Tabela 13.** Número de itens e de categorias taxonómicas encontrados nas amostras de 2012, 2013 e 2014.

	<b>Itens (n)</b>	<b>C. taxonómicas (n)</b>
<b>2012 (n=35)</b>	2060	31
<b>2013 (n=45)</b>	1761	33
<b>2014 (n=352)</b>	8614	53

Tal como em 2014, a dieta foi numericamente dominada por itens da ordem Ephemeroptera tanto em 2012 como em 2013 (Tabela 14; Figura 10). Dípteros e gastrópodes representaram menores percentagens numéricas comparativamente a 2014, apesar de também terem formado os segundos grupos taxonómicos mais frequentes em ambos os anos. A maior proporção volumétrica da dieta em 2012 foi distribuída pelas ordens Ephemeroptera, Pulmonata e Cypriniformes (Figura 10a), enquanto em 2013 foi principalmente representada por Cypriniformes, seguida pelos Ephemeroptera, Pulmonata e Diptera (Figura 10b).

As presas terrestres também constituíram uma reduzida percentagem numérica da dieta em ambos os anos, sendo no entanto mais frequentes em 2012 (Tabela 14). Para além da ocorrência frequente de isópodes, tricópteros e ostracodes, aproximadamente um terço dos indivíduos consumiu coleópteros aquáticos em 2012 (Figura 10a).

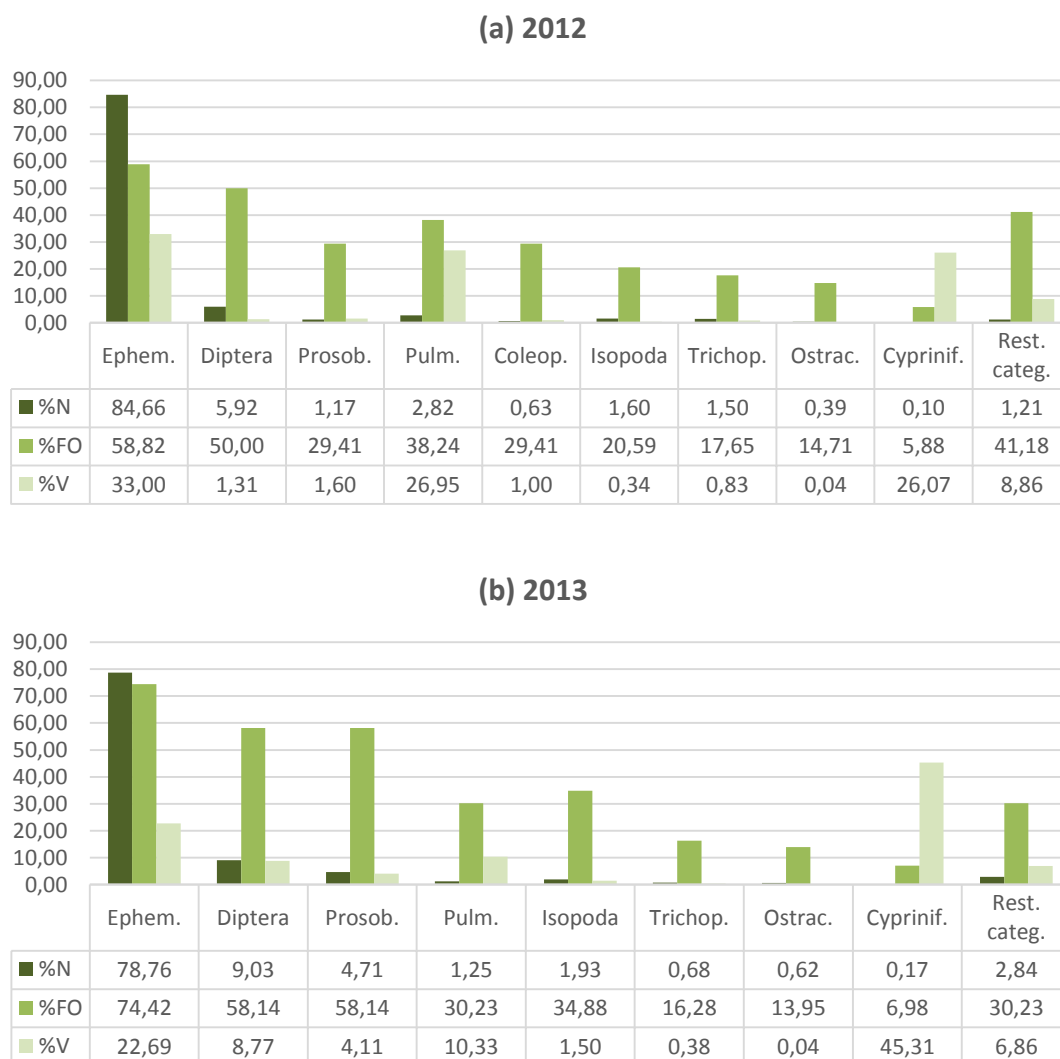
**Tabela 14.** Composição da dieta de *X. laevis* na ribeira de Barcarena em 2012 e 2013. %N – Percentagem numérica; %FO – Frequência de ocorrência; %V – Percentagem volumétrica; IRI – Índice de importância relativa; NI – Não identificado; L – Larva; P – Pupa; A – Adulto; G – Girino.

C. taxonómica	2012				2013			
	%N	%FO	%V	IRI	%N	%FO	%V	IRI
<b>Bentos</b>								
<b>Ephemeroptera</b>								
Baetidae	83.30	52.94	32.29	6119.72	78.19	67.44	22.45	6787.94
Caenidae	1.36	29.41	0.71	60.88	0.51	18.60	0.24	13.89
NI	-	-	-	-	0.06	2.33	-	0.13
<b>Diptera</b>								
Chironomidae	1.55	41.18	0.33	77.63	7.21	41.86	2.86	421.70
Simuliidae (L)	3.69	17.65	0.71	77.56	0.17	4.65	0.03	0.94
Simuliidae (P)	0.34	17.65	0.13	8.29	-	-	-	-
Tipulidae	-	-	-	-	0.06	2.33	4.27	10.06
Syrphidae	-	-	-	-	0.06	2.33	0.54	1.38
NI (L)	0.05	2.94	0.08	0.37	0.06	2.33	0.07	0.29
NI (P)	0.29	11.76	0.07	4.24	1.48	25.58	1.01	63.50
<b>Trichoptera</b>								
Hydroptilidae	1.50	17.65	0.83	41.21	0.51	11.63	0.14	7.52
Hydropsychidae	-	-	-	-	0.17	6.98	0.25	2.91
<b>Coleoptera</b>								
Dytiscidae (A)	0.19	11.76	0.52	8.40	0.06	2.33	-	0.13
Dytiscidae (L)	0.19	11.76	0.04	2.71	0.11	4.65	-	0.53
Hydrophilidae	0.10	5.88	0.26	2.07	0.06	2.33	1.20	2.93
Helophoridae	0.05	2.94	0.19	0.69	-	-	-	-
NI (A)	0.10	5.88	-	0.57	-	-	-	-
NI (L)	-	-	-	-	0.06	2.33	-	0.13



**Tabela 14 (Continuação).** Composição da dieta de *X. laevis* na ribeira de Barcarena em 2012 e 2013.  
 %N – Percentagem numérica; %FO – Frequência de ocorrência; %V – Percentagem volumétrica; IRI – Índice de importância relativa; NI – Não identificado; L – Larva; P – Pupa; A – Adulto; G – Girino.

C. taxonômica	2012				2013			
	%N	%FO	%V	IRI	%N	%FO	%V	IRI
<b>Hemiptera</b>								
Corixidae	0.15	8.82	2.16	20.34	0.11	2.33	-	0.26
<b>Odonata</b>								
Lestidae	0.05	2.94	-	0.14	-	-	-	-
Calopterygidae	0.05	2.94	-	0.14	-	-	-	-
<b>Gastropoda</b>								
Prosobranchia	1.17	29.41	1.60	81.40	4.71	58.14	4.11	513.02
Pulmonata								
Physidae	2.62	35.29	26.55	1029.59	0.91	25.58	5.96	175.58
Ancylidae	0.15	8.82	0.40	4.81	0.23	6.98	0.15	2.62
Lymnaeidae	-	-	-	-	0.11	4.65	4.23	20.20
Planorbidae	0.05	2.94	-	0.14	-	-	-	-
<b>Isopoda</b>								
Asellidae	1.60	20.59	0.34	39.93	1.93	34.88	1.50	119.79
<b>Amphipoda</b>	-	-	-	-	0.11	2.33	-	0.26
<b>Acariformes</b>								
Hydrachnidae	0.05	2.94	0.00	0.16	0.11	4.65	0.01	0.58
<b>Arhynchobdellida</b>								
Hirudinidae	0.10	2.94	2.19	6.72	0.34	9.30	4.31	43.25
<b>Tricladida</b>								
Planariidae	0.05	2.94	-	0.14	-	-	-	-
<b>Anura</b>								
<i>P. perezi</i> - ovos	-	-	-	-	1.42	4.65	0.28	7.89
<b>Plancton</b>								
<b>Ostracoda</b>	0.39	14.71	0.04	6.26	0.62	13.95	0.04	9.26
<b>Necton</b>								
<b>Cypriniformes</b>								
<i>C. paludica</i> (A)	0.10	5.88	26.07	153.92	0.17	6.98	45.31	317.28
<b>Anura</b>								
<i>X. laevis</i> (G)	0.15	8.82	4.50	41.03	-	-	-	-
<b>Terrestre</b>								
<b>Ephemeropt.</b>	0.29	8.82	-	2.57	0.06	2.33	-	0.13
<b>Hymenoptera</b>								
Formicidae	0.15	5.88	-	0.86	-	-	-	-
NI	0.05	2.94	-	0.14	0.06	2.33	-	0.13
<b>Coleoptera</b>								
Carabidae	-	-	-	-	0.06	2.33	0.22	0.64
<b>Isopoda</b>	-	-	-	-	0.06	2.33	0.84	2.09
<b>Chilopoda</b>	0.05	2.94	-	0.14	0.06	2.33	-	0.13
<b>Oligochaeta</b>								
Lumbricidae	-	-	-	-	0.11	2.33	-	0.26
<b>Outros</b>								
NI	0.05	2.94	-	0.14	0.06	2.33	-	0.13
Mat. artificiais	0.05	2.94	-	0.14				
Matéria vegetal		29.41				60.47		
Pedras		41.18				39.53		
Pele - <i>X. laevis</i>		23.53				16.28		
<b>Total</b>	100		100		100		100	



**Figura 10.** Percentagem numérica (%N), frequência de ocorrência (%FO) e percentagem volumétrica (%V) das principais ordens e subclasses consumidas em 2012 (a) e 2013 (b).

Em 2012, os itens mais numerosos foram larvas de efémeras Baetidae (83.30%), seguidas por larvas de dípteros Simuliidae (3.69%) e por gastrópodes Physidae (2.62%), enquanto os mais frequentes foram os Baetidae (52.94%), Chironomidae (41.18%) e Physidae (35.29%). A maior contribuição volumétrica correspondeu às categorias Baetidae (32.29%), Physidae (26.55%) e *C. paludica* (26.07%).

Em 2013, larvas de Baetidae (78.19%) e de Chironomidae (7.21%) e gastrópodes Prosobranchia (4.71%) formaram a maior proporção numérica dos itens encontrados nos conteúdos estomacais. Os baetídeos foram consumidos por um maior número de indivíduos (67.44%), seguidos por gastrópodes prosobrânquios (58.14%) e

quironomídeos (41.86%). Volumetricamente, a principal contribuição foi realizada por ciperínídeos da espécie *C. paludica* (45.31%), baetídeos (22.45%) e fisídeos (5.96%).

As larvas de Baetidae apresentaram, deste modo, em ambos os anos, quase o dobro da importância relativa registada em 2014 (2012: IRI=6119.72; 2013: IRI=6787.94; 2014: IRI=3547.45), inversamente à tendência observada para outras das principais categorias (*e.g.*, Caenidae, Chironomidae e Prosobranchia) cujo IRI foi maior em 2014.

Apesar da elevada especialização e reduzida diversidade da dieta em todos os anos, verificaram-se aumentos na amplitude do nicho trófico, na diversidade e na equitabilidade das categorias taxonómicas utilizadas entre 2012 e 2014, respectivamente indicados pelos valores de  $B_A$ ,  $H'$  e  $J'$  (Tabela 15). Os valores de  $C_H$  demonstraram uma elevada sobreposição dos nichos tróficos entre todos os anos, sendo esta quase total entre 2012 e 2013 (Tabela 16). No entanto, as comparações com 2014 revelaram uma diminuição da sobreposição ao longo dos anos (Tabela 16), coincidente com o aumento da abundância de *X. laevis* na ribeira de Barcarena.

**Tabela 15.** Valores dos índices de Levins padronizado ( $B_A$ ), Shannon-Wiener ( $H'$ ) e equitabilidade de Pielou ( $J'$ ) dos nichos tróficos em 2012, 2013 e 2014.

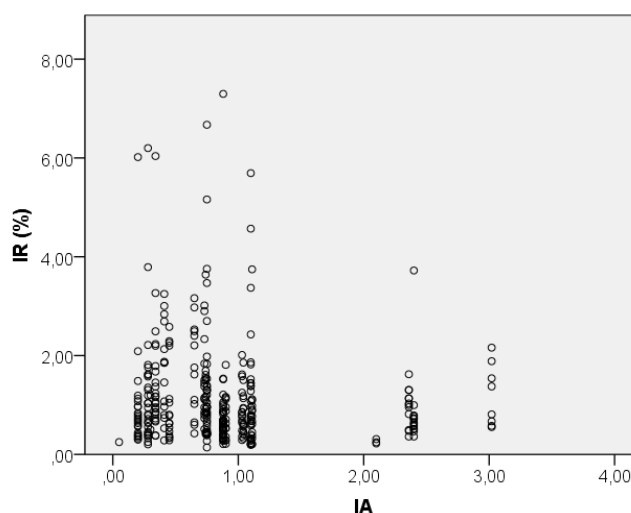
Índices	2012	2013	2014
$B_A$	0.01	0.02	0.06
$H'$	0.87	1.02	1.93
$J'$	0.25	0.29	0.49

**Tabela 16.** Valores do índice de sobreposição de Morisita-Horn ( $C_H$ ) entre os nichos tróficos de 2012, 2013 e 2014.

	2012-2013	2013-2014	2012-2014
$C_H$	0.99	0.85	0.81

#### 4.1.4. Comparação da dieta entre locais com diferentes abundâncias em 2014

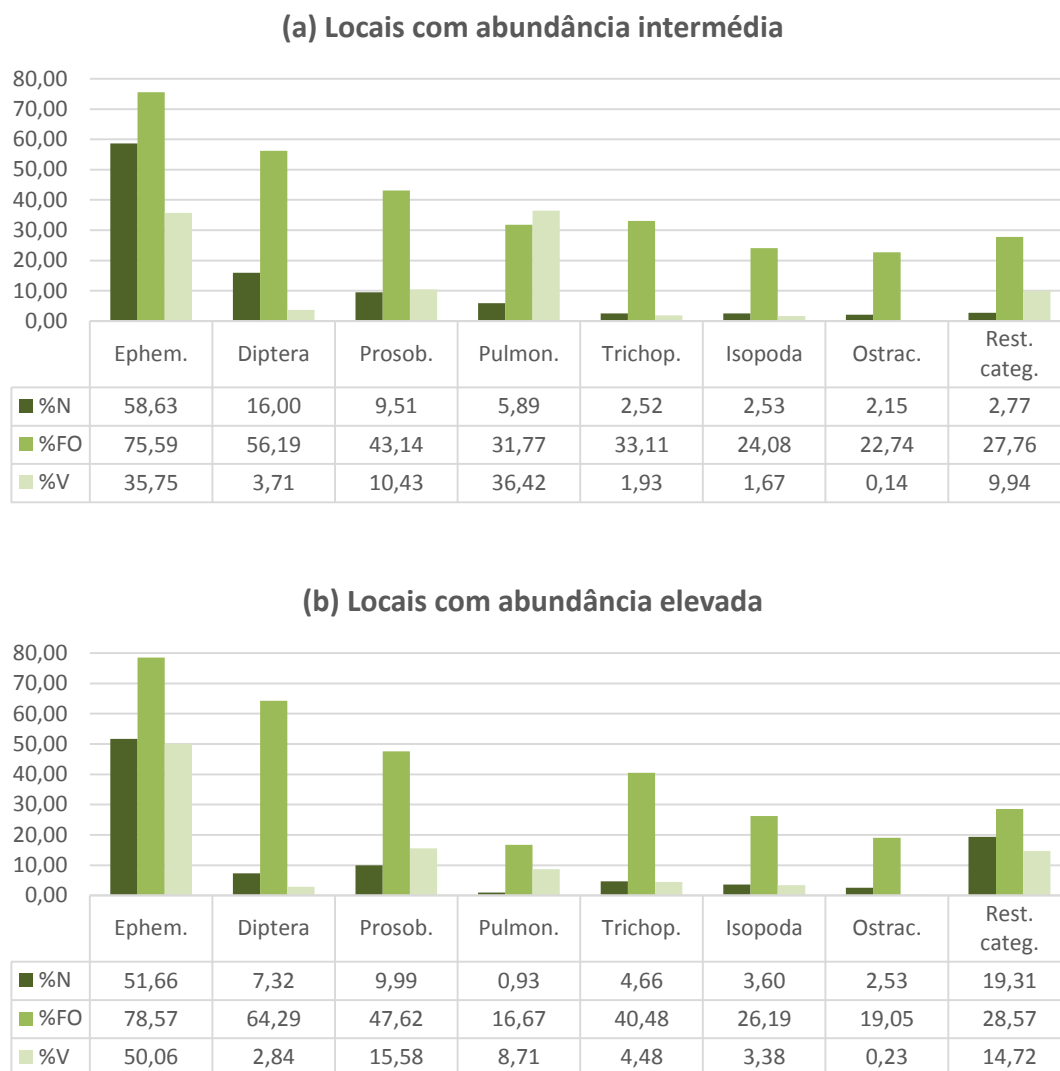
Foi encontrada uma correlação negativa e significativa entre o índice de repleção estomacal e o índice de abundância de *X. laevis* na ribeira de Barcarena em 2014 ( $r_s=-0,141$ ;  $p=0,009$ ) (Figura 11), apesar do mesmo padrão não ter sido verificado em relação ao número de itens ingeridos ( $r_s=0,035$ ;  $p=0,517$ ).



**Figura 11.** Relação entre o índice de repleção estomacal e o índice de abundância de *X. laevis* no local de captura em 2014.

Foram analisados 310 indivíduos provenientes de locais com abundância intermédia e 42 indivíduos provenientes de locais com abundância elevada. Independentemente da abundância no local de captura a maior percentagem numérica da dieta foi constituída por larvas de efémeras (Figura 12; Tabela 17). Estas foram seguidas por dípteros e por gastrópodes prosobrânquios e pulmonados em locais com abundância intermédia (Figura 12a) e por gastrópodes prosobrânquios e dípteros em locais com abundância elevada (Figura 12b). A frequência de ocorrência das principais ordens/subclasses foi semelhante em ambos os níveis de abundância, à excepção dos gastrópodes pulmonados que foram consumidos por uma maior percentagem de indivíduos em locais com abundância intermédia (Figura 12). Nestes locais a maior proporção volumétrica da dieta foi equilibradamente distribuída por gastrópodes pulmonados (36.42%) e efemerópteros (35.75%), enquanto nos locais com abundância

elevada foi predominantemente constituída por efemerópteros (50.06%), seguidos por gastrópodes prosobrânquios (15.58%) e pulmonados (8.71%).



**Figura 12.** Percentagem numérica (%N), frequência de ocorrência (%FO) e percentagem volumétrica (%V) das principais ordens e subclasses consumidas em locais com abundância intermédia (a) e elevada (b).

Os animais capturados em locais com abundância intermédia alimentaram-se de um maior número de larvas de baetídeos (46.50%), seguidas por larvas de quironomídeos (14.00%) e caenídeos (12.06%) e por gastrópodes prosobrânquios (9.51%). Os baetídeos e quironomídeos foram consumidos por mais de metade dos indivíduos (51.84%), seguidos pelos prosobrânquios (43.14%) e pelos caenídeos

(36.45%). Apesar de ocorrerem em menor número e frequência, os gastrópodes Physidae representaram a maior percentagem volumétrica da dieta (30.84%), seguidos pelos Baetidae (24.84%).

Em locais com abundância elevada, a maior percentagem numérica da dieta correspondeu a larvas de baetídeos (31.16%) e caenídeos (20.51%), ovos de *P. perezi* (17.44%) e gastrópodes prosobrânquios (9.99%). No entanto, os quironomídeos foram os itens mais frequentes a par com os caenídeos (54.76%), seguidos pelos prosobrânquios (47.62%) e baetídeos (42.86%). A maior contribuição volumétrica foi distribuída por caenídeos (26.39%), baetídeos (23.67%) e prosobrânquios (15.58%).

Os baetídeos foram as presas com maior importância relativa para a dieta (IRI=3697.93) em locais com abundância reduzida, seguidos por prosobrânquios (IRI=860.52), quironomídeos (IRI=857.90) e caenídeos (IRI=837.28) com importâncias relativas similares, enquanto em locais com abundância elevada a maior importância relativa para a dieta foi partilhada por caenídeos (IRI=2568.25) e baetídeos (IRI=2349.85), seguidos por prosobrânquios (IRI=1217.26) e quironomídeos (IRI=394.66).

**Tabela 17.** Percentagem numérica (%N), frequência de ocorrência (%FO), percentagem volumétrica (%V) e índice de importância relativa (IRI) das principais categorias taxonómicas consumidas por nível de abundância do local de captura.

C. taxonómica	Abundância							
	Intermédia				Elevada			
	%N	%FO	%V	IRI	%N	%FO	%V	IRI
<b>Ephemeroptera</b>								
Baetidae	46.50	51.84	24.84	3697.93	31.16	42.86	23.67	2349.85
Caenidae	12.06	36.45	10.91	837.28	20.51	54.76	26.39	2568.25
<b>Diptera</b>								
Chironomidae	14.00	51.84	2.55	857.90	5.73	54.76	1.48	394.66
<b>Trichoptera</b>								
Hydroptilidae	1.82	24.75	0.84	65.68	3.46	28.57	2.26	163.51
<b>Gastropoda</b>								
Prosobranchia	9.51	43.14	10.43	860.52	9.99	47.62	15.58	1217.26
Physidae	4.29	12.04	30.84	422.88	0.80	14.29	8.17	128.20
<b>Isopoda</b>								
Asellidae	2.53	24.08	1.67	101.24	3.60	26.19	3.38	182.20
<b>Anura</b>								
<i>P. perezi</i> - ovos	0.14	0.33	0.05	0.06	17.44	4.76	8.31	122.61

Apesar da elevada sobreposição dos nichos tróficos, os índices de diversidade indicam que os indivíduos capturados em locais com abundância elevada apresentaram um nicho mais amplo e utilizaram os recursos mais uniformemente do que os indivíduos capturados em locais com abundância intermédia (Tabela 18).

**Tabela 18.** Valores dos índices de Levins padronizado ( $B_A$ ), Shannon-Wiener ( $H'$ ), equitabilidade de Pielou ( $J'$ ) e Morisita-Horn ( $C_H$ ) dos nichos tróficos de indivíduos capturados em locais com abundância intermédia e elevada.

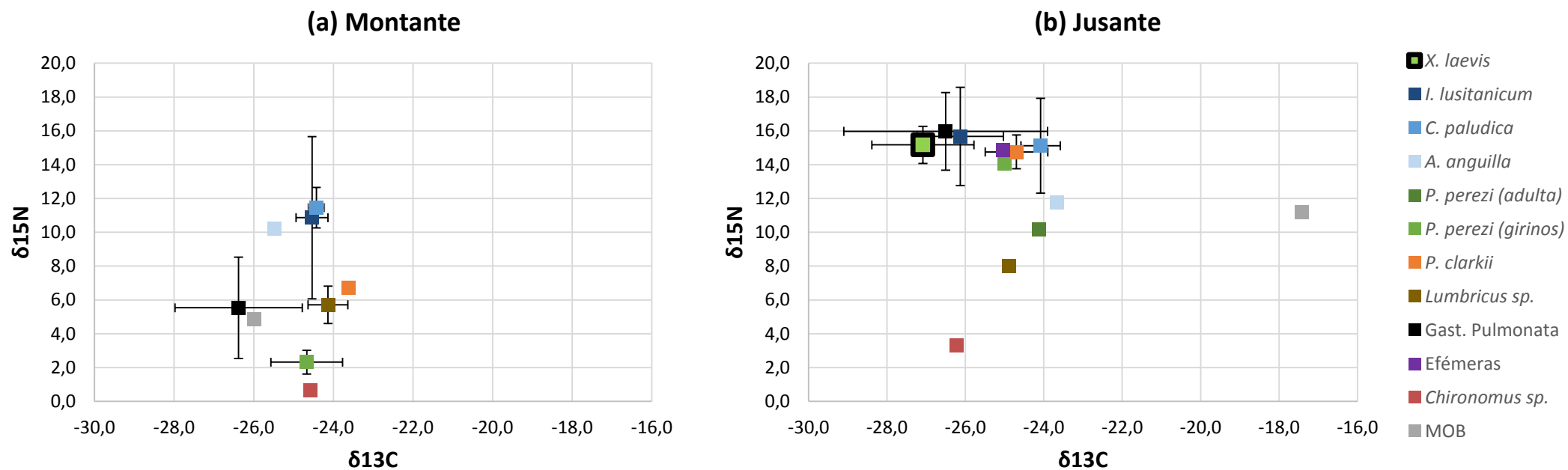
	Abundância	
	Intermédia	Elevada
$B_A$	0.05	0.21
$H'$	1.87	1.98
$J'$	0.47	0.65
$C_H$	0.85	

#### 4.2. Estrutura das cadeias tróficas e níveis tróficos

A estrutura das cadeias tróficas a montante (local não invadido) e jusante (local invadido) na ribeira de Barcarena encontra-se representada nos gráficos da figura 13, construídos a partir da análise isotópica de 43 amostras (18 amostras de montante e 25 amostras de jusante) (Tabela 19).

**Tabela 19.** Número de amostras e valor médio ( $\pm$  desvio padrão) dos rácios de isótopos estáveis de carbono ( $\delta^{13}C$ ) e azoto ( $\delta^{15}N$ ) dos componentes das cadeias tróficas a montante (local não invadido) e jusante (local invadido) na ribeira de Barcarena. G – Girino; A – Adulto.

Componente	Montante			Jusante		
	n	$\delta^{13}C \pm SD$	$\delta^{15}N \pm SD$	n	$\delta^{13}C \pm SD$	$\delta^{15}N \pm SD$
<i>X. laevis</i>	-	-	-	7	$-27.1 \pm 1.3$	$15.2 \pm 1.1$
<i>I. lusitanicum</i>	3	$-24.5 \pm 0.4$	$10.9 \pm 4.8$	3	$-26.1 \pm 1.1$	$15.7 \pm 2.9$
<i>C. paludica</i>	3	$-24.4 \pm 0.2$	$11.5 \pm 1.2$	3	$-24.1 \pm 0.5$	$15.1 \pm 2.8$
<i>A. anguilla</i>	1	-25.5	10.3	1	-23.7	11.8
<i>P. perezii</i> (A)	-	-	-	1	-24.1	10.2
<i>P. perezii</i> (G)	2	$-24.7 \pm 0.9$	$2.3 \pm 0.7$	2	$-25.0 \pm 0.1$	$14.1 \pm 0.4$
<i>P. clarkii</i>	1	-23.6	6.7	2	$-24.7 \pm 0.8$	$14.8 \pm 1.0$
<i>Lumbricus</i> sp.	3	$-24.1 \pm 0.5$	$5.7 \pm 1.1$	1	-24.9	8.0
Gastrópodes	3	$-26.4 \pm 1.6$	$5.5 \pm 3.0$	2	$-26.5 \pm 2.6$	$16.0 \pm 2.3$
Efémeras	-	-	-	1	-25.0	14.9
Quironomídeos	1	-24.6	0.6	1	-26.2	3.3
Mat. org. bentos	1	-26.0	4.8	1	-17.4	11.2



**Figura 13.** Coordenadas isotópicas (valores médios de  $\delta^{15}N$  e  $\delta^{13}C$ ) dos componentes das cadeias tróficas a montante (local não invadido) (a) e a jusante (local invadido) (b) na ribeira de Barcarena. As barras de erro representam o desvio padrão. MOB – Matéria orgânica de bentos.



Verificou-se uma variação no valor médio de  $\delta^{13}\text{C}$  entre -26.4‰ (gastropodes pulmonados) e -23.6‰ (*P. clarkii*) a montante e entre -27.1‰ (*X. laevis*) e -23.7‰ (*A. anguilla*) a jusante, com a exceção importante da matéria orgânica do bentos (-17.4‰). Relativamente aos valores médios de  $\delta^{15}\text{N}$ , verificou-se uma variação entre 0.6‰ (quironómídeos) e 11.5‰ (*C. paludica*) a montante e entre 3.3‰ (quironómídeos) e 16.0‰ (gastropodes pulmonados) a jusante.

Analisando a estrutura vertical da cadeia trófica a montante (Figura 13a), observa-se que as três espécies de peixes, únicos consumidores secundários representados no local, ocupam uma posição trófica semelhante e claramente superior à dos consumidores primários e da matéria orgânica do bentos.

A estrutura vertical da cadeia trófica a jusante (Figura 13b) mostra um enriquecimento generalizado em  $\delta^{15}\text{N}$  de todos os elementos em comparação com o observado a montante, com uma grande proximidade entre vários consumidores primários (girinos de *P. perezi*, efémeras e gastropodes) e os consumidores secundários. À exceção de *A. anguilla*, as espécies de peixes nativas ocupam uma posição trófica muito semelhante à posição ocupada por *X. laevis*, corroborada pela inexistência de diferenças significativas nas assinaturas isotópicas de  $\delta^{15}\text{N}$  entre *X. laevis* e *I. lusitanicum* ( $U=10,000$ ;  $p=0,909$ ) e entre *X. laevis* e *C. paludica* ( $U=9,000$ ;  $p=0,732$ ). Também não foram encontradas diferenças significativas no enriquecimento em  $\delta^{13}\text{C}$  entre *X. laevis* e *I. lusitanicum* ( $t=-1,084$ ;  $p=0,310$ ) ao contrário do verificado entre *X. laevis* e *C. paludica* ( $t=-3,711$ ;  $p=0,006$ ).

Para o cálculo dos níveis tróficos dos consumidores secundários foram escolhidos os quironómídeos como linha de referência isotópica, dado possuírem o menor valor de  $\delta^{15}\text{N}$  quer a montante quer a jusante (Figura 13) e constituírem um recurso basal importante e comum a todos os consumidores secundários considerados (Sánchez-Carmona *et al.*, 2008; Dorner *et al.*, 2009; Sánchez-Hernández *et al.*, 2011). Os valores obtidos indicam que cada espécie de peixe ocupa um nível trófico semelhante em ambos os locais e que *I. lusitanicum* e *C. paludica* ocupam um nível trófico semelhante ao nível trófico de *X. laevis* a jusante (Tabela 20).

**Tabela 20.** Nível trófico ( $\pm$  desvio padrão) de *X. laevis* e das espécies de peixes nativas nos locais de estudo.

	Nível trófico	
	Montante	Jusante
<i>X. laevis</i>	-	5.5 ( $\pm$ 0.3)
<i>I. lusitanicum</i>	5.0 ( $\pm$ 1.4)	5.6 ( $\pm$ 0.9)
<i>C. paludica</i>	5.2 ( $\pm$ 0.3)	5.5 ( $\pm$ 0.8)
<i>A. anguilla</i>	4.8	4.5

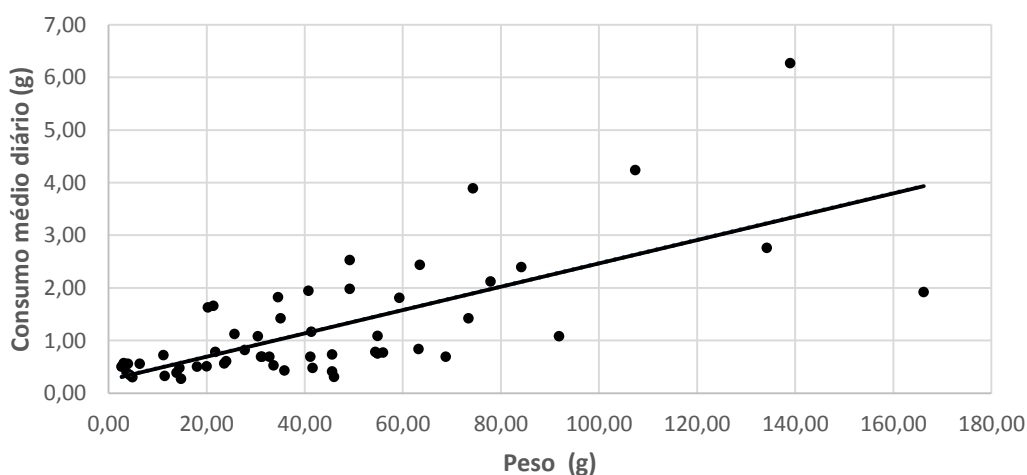
### 4.3. Impacto predatório

#### 4.3.1. Consumo em laboratório

Durante a experiência foi consumido um total de 1896 minhocas, equivalente a uma média diária individual de 1.21 g ( $\pm$  1.19 g) de peso fresco. Quatro indivíduos foram excluídos das análises seguintes devido a consumos irregulares e muito baixos.

Foram encontradas correlações positivas e altamente significativas entre o peso dos animais e os consumos médio diário ( $r_s=0,684$ ;  $p<0,0001$ ), total ( $r_s=0,690$ ;  $p<0,0001$ ) e máximo ( $r_s=0,730$ ;  $p<0,0001$ ). A regressão linear entre o consumo médio diário e o peso revelou uma relação significativa entre as duas variáveis ( $R^2=0,492$ ;  $p<0,0001$ ) (Figura 14), descrita pela equação:

$$\text{Consumo médio diário (g)} = 0.0222 \text{ Peso (g)} + 0.249$$



**Figura 14.** Relação entre o consumo médio diário e o peso corporal de *X. laevis*.

O consumo médio diário diferiu significativamente entre machos e fêmeas (GLZ,  $X^2=4,596$ ;  $p=0,032$ ) (Machos –  $1.25 \pm 0.81$  g; Fêmeas –  $2.27 \pm 1.91$  g), tal como o consumo total (GLZ,  $X^2=4,225$ ;  $p=0,040$ ) (Machos –  $24.45 \pm 17.17$  g; Fêmeas –  $43.60 \pm 36.97$  g). Não houve diferenças entre sexos no consumo máximo (GLZ,  $X^2=3,071$ ;  $p=0,080$ ) (Machos –  $3.47 \pm 2.67$  g; Fêmeas –  $6.10 \pm 5.97$  g).

Ao contrário do que era esperado, não foram encontradas diferenças significativas entre os consumos nos períodos de iluminação e de escuridão ( $Z=-0,069$ ;  $p=0,945$ ).

#### 4.3.2. Estimativa da biomassa consumida na ribeira de Barcarena

A estimativa da biomassa consumida diariamente em 5 troços da área invadida da ribeira de Barcarena, considerando a estrutura de tamanho corporal (peso) da população de *X. laevis* em cada troço (Anexo II - Figuras a, b, c, d, e), encontra-se na tabela 21.

**Tabela 21.** Estimativa da biomassa consumida diariamente pela população invasora em 5 troços da ribeira de Barcarena em função da sua abundância (número total de animais existentes em cada troço no início da Primavera de 2014; Rebelo *et al.*, 2014) e estrutura de tamanho corporal (Anexo II).

Troço	Abundância	Biomassa consumida / dia (g)
Entre Lugar do Bico e Tributário	431	311.5
Tributário	557	374.7
Fábrica da Pólvora	988	662.9
Entre Viveiros e Fábrica da Pólvora	1327	1017.3
Ribeira-a-baixo	262	224.0

A título exemplificativo, a remoção diária de aproximadamente 1 kg de presas estimada para o troço Entre Viveiros e Fábrica da Pólvora equivale a aproximadamente 200.000 efémeras, 33.000 gastrópodes prosobrânquios ou 625.000 quironomídeos, de acordo com estimativas do peso fresco médio destes organismos aferido em laboratório.

Os resultados obtidos permitem extrapolar que o número total de indivíduos capturados em 2014 ( $N=4814$ ) poderia consumir mais de 3 kg de biomassa por dia e, conseqüentemente, mais de uma tonelada de biomassa por ano.

## 5. Discussão

### 5.1. Composição da dieta

A análise de conteúdos estomacais mostrou que a dieta de *X. laevis* na ribeira de Barcarena é principalmente constituída por macroinvertebrados bentónicos, como verificado em locais onde ocorre naturalmente (sul de África; Schoonbee *et al.*, 1992) e em locais onde foi introduzida (Tinsley & McCoid, 1996; Lobos & Measey, 2002; Lobos & Jaksic, 2005; Amaral & Rebelo, 2012; Courant *et al.*, 2014). Entre uma grande variedade taxonómica de presas, a espécie alimenta-se maioritariamente de larvas de efemerópteros (Baetidae e Caenidae), larvas de dípteros (Chironomidae) e gastrópodes, importantes tanto em número como em frequência e volume. Se por um lado a elevada percentagem numérica e frequência de ocorrência de larvas de dípteros encontra-se amplamente reportada pela literatura referente ao regime alimentar da rã-de-unhas-africana (McCoid & Fritts, 1980; Schoonbee *et al.*, 1992; Measey, 1998; Lobos & Measey, 2002; Amaral & Rebelo, 2012), este é o primeiro estudo a relatar uma predominância numérica e grande importância volumétrica de efemerópteros.

As principais categorias taxonómicas consumidas e as suas proporções diferem das encontradas noutros estudos, onde se descrevem dietas não só numericamente dominadas por gastrópodes e quironómídeos (McCoid & Fritts, 1980; Lobos & Measey, 2002; Amaral & Rebelo, 2012) mas também por ostracodes (Schoonbee *et al.*, 1992), cladóceros (McCoid & Fritts, 1980; Measey, 1998; Faraone *et al.*, 2008a) e copépodes (McCoid & Fritts, 1980). Ao contrário da maior parte das populações invasoras de *X. laevis*, que se estabeleceram em sistemas lênticos (lagoas, charcos ou açudes, em alguns casos ligados por canais com uma velocidade de corrente lenta; Measey & Tinsley, 1998; Lobos & Measey, 2002; Lillo *et al.*, 2005; Fouquet & Measey, 2006), a população de Barcarena está estabelecida num sistema lótico. Dado que a estrutura das comunidades aquáticas destes sistemas depende fortemente de factores sazonais como a precipitação, e consequente efeito na corrente, temperatura e disponibilidade de alimento (Resh *et al.*, 2013), as diferenças observadas entre as composições da dieta na ribeira de Barcarena e em outros locais estão muito provavelmente relacionadas com a disponibilidade de presas de cada meio. Measey (1998) foi o único autor que comparou a composição da dieta de *X. laevis* com a disponibilidade de presas, ainda que num sistema lêntico, demonstrando um consumo direccionado para as presas encontradas em

maior densidade. A predominância dos grupos anteriormente mencionados na dieta em Barcarena deverá deste modo reflectir a sua disponibilidade, não avaliada neste trabalho devido a vários factores que limitam a sua determinação em sistemas lóticos, como a grande heterogeneidade do sistema ao longo do seu curso, a distribuição fragmentada dos invertebrados, os atributos dos organismos (mobilidade ou sessilidade) e a variedade de métodos necessários para uma amostragem apropriada dos diferentes tipos de microhabitat (Taylor *et al.*, 2001).

De acordo com Magalhães (1993), e com outros estudos relativos à ecologia de ciprinídeos em rios mediterrânicos (Coelho *et al.*, 1997; Gomes-Ferreira *et al.*, 2005; Santos *et al.*, 2013; Alexandre *et al.*, 2015), os peixes parecem reagir à escassez de alimento durante o verão através de uma especialização em presas temporariamente mais abundantes. Da mesma forma, o consumo elevado e frequente de larvas de efémeras por *X. laevis* poderá ser explicado pela coincidência do período de estudo com o pico anual de abundância destes insectos, normalmente registado entre o final da Primavera e o início do Outono quando as condições ambientais são mais favoráveis à sua emergência (Graça *et al.*, 1989 em Magalhães, 1993; Santos *et al.*, 2013). A ocorrência frequente de larvas de quironómídeos e de gastrópodes Physidae nos conteúdos estomacais também deverá estar relacionada com uma maior abundância destes grupos, facilitada nessa altura do ano pela sua tolerância a águas pouco oxigenadas (Lobos & Measey, 2002). Ainda que consumidos num número consideravelmente menor do que os efemerópteros, os gastrópodes representam a maior percentagem volumétrica da dieta em Barcarena, existindo uma possível vantagem no seu consumo no que diz respeito à saciação. No entanto, deve-se também referir que a elevada representatividade desta presa pode estar relacionada com a maior dificuldade de digestão da sua concha.

Para além dos recursos mencionados, aproximadamente 20 a 35% dos indivíduos consome tricópteros, isópodes e ostracodes. Os ostracodes parecem constituir as únicas presas planctónicas, grupo numericamente representativo noutros locais (McCoid & Fritts, 1980; Measey, 1998; Lobos & Measey, 2002; Faraone *et al.*, 2008a), mas deverão possuir um valor nutritivo diminuto, uma vez que conseguem sobreviver à passagem pelo sistema digestivo de *X. laevis* (Measey, 1997 em Measey, 1998). As presas terrestres também apresentam uma importância relativa bastante reduzida para a dieta, concordante com o observado por outros autores (Lobos &

Measey, 2002; Faraone *et al.*, 2008a; Amaral & Rebelo, 2012), embora tenha ocorrido uma subestimação do volume deste grupo por impossibilidade de medição de vários itens fragmentados. Estas presas poderão ter sido capturadas em vegetação aquática emergente ou na superfície da água, após queda accidental, mas também no meio terrestre (Measey, 1998).

Relativamente aos vertebrados, confirma-se a predação de ovos de *Pelophylax perezi* e de exemplares adultos de *Cobitis paludica* em Barcarena. Estas observações são semelhantes a descrições anteriores do consumo de três diferentes espécies de peixes num estuário na Califórnia (McCoid & Fritts, 1980; Lafferty & Page, 1997) e de anuros em diferentes estádios de vida na ribeira da Laje em Portugal (Amaral & Rebelo, 2012; Marques, obs. pessoal) e em charcos em Itália (Faraone *et al.*, 2008b). Apesar destes eventos serem raros, a ingestão de 130 ovos de anfíbio por um único indivíduo registada neste estudo evidencia a capacidade de predação de posturas inteiras pela espécie invasora. A prática de canibalismo, extensivamente documentada na literatura, sobretudo quando não existe disponibilidade de outros alimentos (Tinsley *et al.*, 1996), também foi observada. Todavia, o único evento registado em 2014 (1 girino) deverá ser subrepresentativo da sua frequência, dada a maior facilidade de digestão dos tecidos moles de ovos e girinos.

A ocorrência regular de fragmentos de matéria vegetal nos conteúdos estomacais de *X. laevis* considera-se accidental devido ao facto de serem ingeridos em conjunto com presas bentónicas (Measey, 1998; Lobos & Jaksic, 2005). O consumo não intencional de itens é corroborado neste estudo pela ingestão de pedras por mais de metade dos indivíduos e pela ingestão de materiais artificiais, como fibras de plástico.

Ainda que não tenha permitido descrever a totalidade da riqueza da dieta, a dimensão da amostra de 2014 parece ser representativa da sua principal composição uma vez que a curva de rarefacção de categorias taxonómicas encontradas apenas não estabiliza por completo devido a um contínuo aparecimento de presas raras com o aumento do número de estômagos analisados.

A reduzida amplitude do nicho trófico verificada ( $B_A = 0.06$ ) indicaria uma dieta especializada em poucas presas se estas fossem seleccionadas independentemente da sua disponibilidade. Como constatado no único estudo em que foi possível comparar a disponibilidade de presas com o seu consumo (Measey, 1998), é muito provável que

também na ribeira de Barcarena *X. laevis* seja um predador generalista e oportunista, alimentando-se predominantemente das presas existentes em maior abundância no meio aquático.

### **Comparação da dieta entre fêmeas e machos**

A composição da dieta não difere consideravelmente entre sexos, como indicado pela sobreposição quase total dos seus nichos tróficos. Contudo, e em concordância com os resultados de Amaral e Rebelo (2012), as fêmeas consomem mais gastrópodes Physidae do que os machos, o que se traduz numa maior contribuição volumétrica e importância relativa desta presa para a sua dieta. Tendo em conta a dimensão média dos fisídeos em comparação com as restantes presas, tal poderá estar relacionado com o dimorfismo sexual de *X. laevis* (Cannatella & De Sá, 1993; Tinsley *et al.*, 1996), hipótese corroborada pela correlação positiva existente entre o SVL e o volume da maior presa ingerida.

Independentemente do tamanho, as fêmeas não só ingerem em média um maior número de itens como também apresentam um maior índice de repleção estomacal do que os machos. Esta diferença poderá ser por sua vez explicada pelo diferente investimento na reprodução (McCoid & Fritts, 1989; Bernardes, 2008), uma vez que o peso das gónadas das fêmeas pode representar até 17% do seu peso corporal enquanto o peso das gónadas dos machos não ultrapassa em média os 0.19% (Marques, dados não publicados). Os resultados sugerem que a energia despendida na produção de ovos é compensada pela ingestão mais frequente ou de maiores quantidades de presas.

### **Comparação da dieta entre juvenis e adultos**

Entre diferentes estádios de vida a principal diferença na composição da dieta também está relacionada com a contribuição numérica e volumétrica de gastrópodes, resultante numa maior importância relativa de prosobrânquios para os juvenis e de pulmonados Physidae para os adultos. Os adultos conseguirão ingerir gastrópodes de maiores dimensões enquanto os juvenis poderão estar limitados a itens mais pequenos, considerando a relação existente entre o tamanho de *X. laevis* e o volume máximo das



suas presas. Segundo Faraone *et al.* (2008a), algumas diferenças na dieta poderão ser também justificadas por uma utilização diferencial de microhabitats entre rãs de diferentes tamanhos.

Contrariamente ao esperado, não foram encontradas diferenças no número médio de itens ingeridos nem no índice de repleção estomacal entre estádios de vida. Estes resultados poderão reflectir apenas o consumo de um número semelhante de itens, mas mais volumosos, ao longo do crescimento, suportado pela inexistência de uma relação significativa entre o SVL e o número de itens ingeridos e pela relação positiva anteriormente mencionada entre o SVL e o volume da maior presa. Uma intensidade alimentar similar em diferentes estádios de vida indica que o impacto da espécie nas suas principais presas pode ser elevado ao longo da sua ontogenia.

## **5.2. Comparação da dieta entre 2012, 2013 e 2014**

Embora a composição taxonómica da dieta tenha sido semelhante em todos os anos analisados, os resultados deste estudo também sugerem que a utilização dos recursos alimentares poderá ter diferido entre 2012 e 2014. Considerando o conjunto das principais presas da rã-de-unhas-africana na ribeira de Barcarena, verificou-se uma diminuição da importância relativa de baetídeos em 2014 (comparativamente a 2012 e 2013) e um aumento da importância relativa não só de outra família de efemerópteros como também de gastrópodes prosobrânquios e quironomídeos. Esta alteração, também indicada pela diminuição da sobreposição dos nichos tróficos entre anos, traduziu-se num aumento da equitabilidade das presas consumidas e da amplitude do nicho trófico em 2014.

Segundo Van Valen (1965) (em Bolnick *et al.*, 2010), a amplitude do nicho de uma espécie expressa um equilíbrio entre a pressão diversificadora da competição intraespecífica e a pressão limitadora da competição interespecífica. Consequentemente, a expansão do nicho trófico de *X. laevis* poderá reflectir um aumento de competição intraespecífica provocado pelo aumento da abundância da espécie entre 2012 e 2014 na ribeira de Barcarena. Padrões similares foram descobertos em experiências no meio natural, onde o aumento da densidade populacional da perca-europeia *Perca fluviatilis* (Svanback & Persson, 2004) ou do esgana-gato *Gasterosteus aculeatus* (Svanback &

Bolnick, 2007; Araújo *et al.*, 2008) levou a uma redução da disponibilidade de recursos preferidos e à utilização de recursos raramente utilizados em baixas densidades populacionais. Apesar do índice de repleção estomacal não ter diferido entre anos, a ingestão de um menor número de itens por indivíduo em 2014 comparativamente a 2012 também poderá ser explicada pela maior competição intraespecífica, cujos impactos poderão ser mais notórios na densidade das presas preferidas do que na intensidade alimentar ou na disponibilidade total de alimento.

Uma vez que a quantificação dos nichos tróficos através da análise de conteúdos estomacais não integra informação sobre a variação temporal da diversidade e disponibilidade de recursos, factor do qual o nicho de uma espécie também depende (Bearhop *et al.*, 2004; Olsson *et al.*, 2009), a variação da amplitude do nicho trófico na ribeira de Barcarena poderá simplesmente reflectir a disponibilidade de recursos em cada ano. É também possível que a diferente dimensão das amostras dos três anos tenha influenciado os resultados obtidos, tendo em conta a sensibilidade dos índices de diversidade a este parâmetro (Magurran, 2004). No entanto, a diferente utilização de recursos ao longo dos anos foi também demonstrada pela diminuição do índice de sobreposição de Morisita-Horn, o qual é bastante independente da dimensão das amostras e da diversidade (Wolda, 1981; Magurran, 2004) em contraste com os restantes índices utilizados (Krebs, 1999).

Outras diferenças foram observadas, como uma maior frequência de consumo de coleópteros aquáticos e de presas terrestres em 2012 e uma elevada importância relativa de *C. paludica* em 2012 e 2013, porém com pouca relevância no que diz respeito à utilização de recursos devido à sua diminuta contribuição numérica para a dieta. Em relação ao consumo de pele, os valores registados em 2012 aproximam-se dos registados por Faraone *et al.* (2008a) para rãs adultas. A diminuição da sua frequência entre 2012 e 2014 poderá ser explicada pela diminuição do SVL médio dos animais capturados ao longo dos anos e, consequentemente, da menor probabilidade de terem atingido a maturação sexual, dado o aumento da frequência do consumo de pele a partir do início da época de reprodução descrito por Measey (1998).

### 5.3. Comparação da dieta entre locais com diferentes abundâncias em 2014

Supondo que o impacto predatório de uma espécie invasora aumenta proporcionalmente com a sua densidade populacional, hipotetizou-se que possíveis diferenças na abundância das principais presas de *X. laevis* em locais com diferentes abundâncias do invasor seriam reflectidas na composição da dieta. Por exemplo, o decréscimo acentuado das densidades de dreissenídeos e anfípodes provocado pelo aumento da densidade do invasor *Neogobius melanostomus* no lago Erie entre 2001 e 2004 foi acompanhado por uma redução da importância dos dreissenídeos para a dieta desta espécie e pelo aumento da importância de outras presas (Barton *et al.*, 2005). Raby *et al.* (2010) observaram o mesmo padrão entre a área de introdução inicial deste góbio no rio Trent (Canadá) e duas áreas de expansão com menor densidade populacional em 2008. Existem também registos de diferenças consideráveis na composição da dieta entre áreas mais invadidas e menos invadidas para outras espécies devido a diferentes intensidades predatórias na estrutura das comunidades bentónicas (Haley *et al.*, 2011). Contudo, não foram verificadas diferenças análogas neste estudo. Apesar dos baetídeos apresentarem uma menor importância para a dieta em locais com abundância elevada de *X. laevis*, o aumento da importância e a codominância de outra família de efemerópteros (Caenidae) nos mesmos locais sugerem diferenças na disponibilidade destas presas não necessariamente relacionadas com impactos predatórios. O mesmo se aplica ao decréscimo da importância de gastrópodes fisídeos, cuja possível diminuição de densidade por maior pressão predatória (*e.g.* Kreps *et al.*, 2012) é contraditória com o ligeiro aumento da importância de gastrópodes prosobrânquios. Assim, embora a sobreposição dos nichos tróficos ( $C_H=0.85$ ) seja comparável à sobreposição verificada entre o ano de 2012 e a totalidade da amostra de 2014 ( $C_H=0.81$ ), a utilização de recursos ecologicamente semelhantes em locais com diferentes abundâncias em 2014 (efemerópteros da família Baetidae ou Caenidae e gastrópodes prosobrânquios ou pulmonados) indica que as diferenças na composição da dieta não estarão relacionadas com impactos predatórios.

No entanto, a relação negativa encontrada entre o índice de repleção estomacal e o índice de abundância de *X. laevis* na ribeira de Barcarena sugere que a abundância poderá afectar a intensidade alimentar dos indivíduos. Salgado *et al.* (2004) referem a competição intraespecífica como possível explicação para um padrão similar entre a repleção estomacal e a densidade do caboz-da-areia *Pomatoschistus minutus* no

estuário do Tejo. Svanback e Bolnick (2007) também demonstraram que o aumento da competição por recursos pode ter esse efeito. Os resultados relativos ao índice de repleção estomacal devem ser interpretados com precaução dado que a intensidade alimentar pode ser influenciada por outros factores, como variações sazonais e circadianas, diferenças entre sexos e entre estádios de vida, e outros parâmetros biológicos e ambientais (Garrido *et al.*, 2008). Salienta-se, todavia, que os animais utilizados neste estudo foram capturados na mesma estação do ano (Junho a Agosto) e no mesmo período diário (07:00 às 13:00 horas); não foram encontradas diferenças no IR entre juvenis e adultos; IRs superiores a 3% (quase exclusivamente registados em locais de abundância intermédia) foram encontrados tanto em fêmeas como em machos. Deste modo, excluindo possíveis efeitos desconhecidos de outros parâmetros, considera-se que a variação do índice de repleção estomacal poderá reflectir uma variação da intensidade de competição intraespecífica com o índice de abundância.

O impacto ecológico de uma espécie invasora pode não estar linearmente relacionado com a sua abundância/densidade (Yokomizo *et al.*, 2009; Jackson *et al.*, 2015), existindo um possível valor limiar de abundância a partir do qual os efeitos de *X. laevis* são mais notórios. Por outro lado, caso o impacto predatório varie linearmente com a abundância do predador, uma comparação entre o troço da ribeira onde a espécie se encontra estabelecida há mais anos e os limites inferior e superior da sua distribuição (*e.g.* Raby *et al.*, 2010) poderá ser mais apropriada do que a comparação realizada neste estudo, uma vez que os efeitos na abundância das principais presas poderão ser mais evidentes em locais invadidos há mais tempo.

#### **5.4. Impactos na estrutura da cadeia trófica e níveis tróficos**

A obtenção de recursos por espécies invasoras pode corresponder à exploração de nichos não utilizados pelas espécies nativas (oportunismo) ou à utilização agressiva dos recursos explorados por estas (competição) (Tilman, 2004; Sol *et al.*, 2012). Considerando o incremento expectável em  $\delta^{15}\text{N}$  entre sucessivos níveis tróficos (Cabana & Rasmussen, 1996), a cadeia trófica a montante (local não invadido por *X. laevis*) revela uma estruturação clara, com separação dos consumidores primários e secundários, e diferente da verificada a jusante (local invadido por *X. laevis*), onde organismos herbívoros possuem assinaturas de  $\delta^{15}\text{N}$  semelhantes às de organismos

omnívoros. As diferenças observadas nas posições tróficas das espécies entre os dois locais não podem ser, no entanto, atribuídas à presença de *X. laevis*. Embora possam ser interpretadas como o resultado da utilização de diferentes recursos, ou até como alimentação a diferentes níveis tróficos, os valores elevados de  $\delta^{15}\text{N}$  da maioria dos consumidores primários e da matéria orgânica do bentos a jusante sugerem diferenças isotópicas na base das cadeias tróficas, geralmente relacionadas com alterações sazonais na produção primária (Yoshioka *et al.*, 1994) ou *inputs* antropogénicos de nutrientes (Cabana & Rasmussen, 1996; Lake *et al.*, 2001). Cabana e Rasmussen (1996) observaram que o enriquecimento em  $\delta^{15}\text{N}$  de consumidores primários aumentava com a densidade populacional humana numa bacia hidrográfica, provavelmente em consequência do elevado  $\delta^{15}\text{N}$  proveniente de águas residuais. Dada a ocorrência de descargas agrícolas, domésticas e industriais na ribeira de Barcarena (Instituto da Água, 2001; Rebelo *et al.*, 2010) e a urbanização mais densa das margens a jusante (Kondolf *et al.*, 2010; Marques, obs. pessoal), uma maior influência antropogénica poderá ser responsável pelo fenómeno observado no local invadido.

Os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e a sua estreita variação em ambos os locais expressam uma dependência praticamente exclusiva de fontes terrestres de matéria orgânica (Alcorlo & Baltanás, 2013). Ainda que o enriquecimento em  $\delta^{13}\text{C}$  da matéria orgânica do bentos a jusante (-17.4) seja característico de ecossistemas de água doce altamente produtivos com elevado armazenamento de detritos (Fry & Sherr, 1984 em Alcorlo & Baltanás, 2013), possíveis diferenças na produção primária entre locais não estão reflectidas nos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  dos restantes elementos da cadeia trófica.

Apesar de *X. laevis* ocupar um nível trófico semelhante ao de *I. lusitanicum* e *C. paludica* a jusante, como indicado pela inexistência de diferenças significativas entre as assinaturas isotópicas de  $\delta^{15}\text{N}$ , a ocupação do mesmo nível trófico por parte das espécies nativas de peixes em ambos os locais da ribeira não evidencia a ocorrência de competição com a espécie invasora. Porém, os níveis tróficos estimados neste estudo não são consistentes com os níveis encontrados na literatura para ciprinídeos, cujos valores rondam os 3.5 (Vander Zanden *et al.*, 1997; Anderson & Cabana, 2007; Rybczynski *et al.*, 2008), nem com a dieta predominantemente insectívora de *X. laevis* em Barcarena (resultados deste trabalho). De um modo geral, níveis tróficos de 5.5 são alcançados por predadores de topo, como ursos polares ou orcas (Pauly *et al.*, 1998). Uma estimativa precisa do nível trófico de um consumidor secundário depende de dois

factores: utilização de uma linha de referência isotópica que integre as variações isotópicas da base da cadeia que representa à escala espacial e temporal do consumidor secundário considerado e utilização de um valor de fraccionamento isotópico representativo da transferência de  $\delta^{15}\text{N}$  por nível trófico (Post, 2002; Layman *et al.*, 2012). Por um lado, os consumidores primários escolhidos como linha de referência isotópica neste estudo poderão não ter sido os mais apropriados para o efeito. Independentemente da eficácia da sua utilização para a estimativa de níveis tróficos anteriormente demonstrada por Franssen e Gido (2006), os quironómídeos poderão exibir alguma variabilidade temporal na assinatura de  $\delta^{15}\text{N}$ , resultante do seu ciclo de vida relativamente curto, e consequentemente não reflectir as assinaturas isotópicas integradas ao longo do tempo pelos consumidores secundários. Esta hipótese é suportada pelo reduzido enriquecimento em  $\delta^{15}\text{N}$  dos quironómídeos tanto a jusante como a montante, em comparação com os restantes consumidores primários. Por outro lado, o factor de fraccionamento de 3.4‰ aplicado, concordante com vários estudos realizados em ecossistemas aquáticos (Peterson & Fry, 1987; Vander Zanden & Rasmussen, 2001; Post, 2002; Anderson & Cabana, 2007), poderá não ter sido igualmente adequado a todas as espécies. Estudos mais recentes mostram que o fraccionamento de  $\delta^{15}\text{N}$  entre recursos e consumidores pode diferir consoante o nível trófico, taxonomia e fisiologia dos últimos (McCutchan *et al.*, 2003; San Sebastián *et al.*, 2015). O reduzido número de amostras utilizadas também terá influenciado os resultados obtidos, baseado no considerável desvio padrão da assinatura de  $\delta^{15}\text{N}$  dos consumidores secundários em ambos os locais.

Como referido por Layman *et al.* (2012), a similaridade isotópica não equivale necessariamente a similaridade ecológica, dado que duas espécies com o mesmo nicho isotópico podem ser suportadas por diferentes vias tróficas com fontes basais caracterizadas por valores isotópicos semelhantes. Contudo, de acordo com a dieta de *X. laevis* descrita neste estudo e na dieta conhecida de *C. paludica* (Soriguer *et al.*, 2000; Sánchez-Carmona *et al.*, 2008) e de espécies congéneres de *I. Lusitanicum* (Sánchez-Hernández *et al.*, 2011) em rios mediterrânicos, a assinatura isotópica similar de  $\delta^{15}\text{N}$  das três espécies a jusante parece reflectir o consumo predominante de presas comuns (*e.g.*, quironómídeos e baetídeos), sugerindo uma potencial sobreposição dos recursos utilizados pela espécie invasora e por ambas as espécies nativas de peixes na ribeira de Barcarena.

## **5.5. Impacto predatório**

### **Relação das taxas de consumo com o peso, sexo e período de actividade**

Como esperado, a taxa de consumo diária de *X. laevis* está positivamente correlacionada com o peso dos indivíduos. O maior consumo, tanto diário como total, por parte das fêmeas independentemente do tamanho poderá ser explicado pelo seu maior investimento energético na reprodução (McCoid & Fritts, 1989; Bernardes, 2008), tal como referido relativamente ao número de itens ingeridos e ao índice de repleção estomacal na análise da dieta. Populações com um rácio sexual enviesado em seu favor poderão ter, deste modo, um maior impacto predatório.

A inexistência de diferenças no consumo entre os períodos de iluminação e escuridão não é consistente com a literatura, segundo a qual a espécie apresenta um padrão de actividade nocturna em condições laboratoriais com um regime de fotoperíodo igual ao utilizado neste trabalho (Harada *et al.*, 1998). Porém, o alimento fornecido (anelídeos) manteve-se vivo durante ambos os períodos do teste de consumo, movimentando-se no aquário, o que poderá explicar a resposta predatória semelhante dada a relação existente entre a actividade crepuscular e nocturna de *X. laevis* e o período de maior actividade das suas principais presas (Hershey, 1987 em Measey, 1998).

### **Estimativas da biomassa consumida na ribeira de Barcarena**

De acordo com as estimativas deste trabalho, a população de *X. laevis* encontrada no troço com maior abundância de indivíduos na ribeira de Barcarena poderia consumir aproximadamente 370 kg de biomassa por ano. Por extrapolação, estima-se que o efectivo populacional alcançado pela espécie em 2014 conseguiria remover anualmente mais de uma tonelada de biomassa das suas principais presas da área invadida da ribeira.

Sem conhecimento da biomassa de invertebrados existente nas áreas consideradas ou das taxas de consumo das espécies nativas de vertebrados aquáticos para comparação, seria especulativo deduzir que as taxas de consumo da rã-de-unhas-africana, por si só, teriam impactos substanciais nas espécies nativas. Contudo deve-se

referir que, para além dos impactos directos por predação e competição, as espécies invasoras também podem modificar as interacções dentro das comunidades e provocar cascatas tróficas (Simon & Townsend, 2003), ou seja, efeitos quantitativos no fluxo de matéria orgânica e energia originados pela actividade alimentar de populações de um determinado nível trófico em níveis tróficos não adjacentes (Carpenter *et al.*, 1985 em Huryn, 1998). Várias experiências com peixes (Flecker & Townsend, 1994; Baxter *et al.*, 2004; Kipp & Ricciardi, 2012) e lagostins (Nystrom *et al.*, 1999; Moore *et al.*, 2012) demonstram que a introdução de espécies bentívoras em ecossistemas de água doce pode provocar um aumento da biomassa algal através da diminuição da biomassa de invertebrados herbívoros. Tendo em conta a dieta de *X. laevis* na ribeira de Barcarena, predominantemente bentívora e numericamente dominada por presas herbívoras como larvas de efémeras e gastrópodes, e as taxas de consumo verificadas, é provável que a manutenção da abundância registada em 2014 tenha efeitos negativos na densidade dos macroinvertebrados bentónicos mencionados e, consequentemente, na estrutura das comunidades onde a espécie se insere.

Deve-se também salientar que as taxas de consumo de *X. laevis* no meio natural dependem da duração do seu período de actividade anual, por sua vez dependente da variação sazonal de factores como a temperatura e a disponibilidade de alimento (McCoid & Fritts, 1989; Tinsley *et al.*, 1996), podendo ser mais baixas do que as estimadas em laboratório. A ocorrência de reprodução da espécie ao longo de quase todo o ano na Califórnia foi relacionada por McCoid e Fritts (1989) com uma temperatura média da água de 20°C na região. No entanto, há registos de vocalizações no Reino Unido a partir de temperaturas de 15°C (Measey, 1997 em Measey, 2001), semelhantes às verificadas na ribeira de Barcarena no Inverno (Moreira, com. pessoal). A duração da época de reprodução de *X. laevis* em Portugal (Maio a Setembro; Bernardes, 2008) e avistamentos de abundâncias relativamente elevadas até Novembro (Moreira, com. pessoal) indicam que a espécie se encontra activa durante maior parte do ano, período ao longo do qual as taxas estimadas poderão ser mantidas.



## 6. Considerações finais

A utilização da análise de conteúdos estomacais e da análise de isótopos estáveis como métodos complementares e a quantificação do potencial predatório permitiram colmatar algumas limitações individuais de cada método, possibilitando uma interpretação mais integrada dos potenciais impactos tróficos de *X. laevis* na ribeira de Barcarena. Em resumo, a dieta predominantemente bentívora e a rara ocorrência de predação de vertebrados, a ocupação de um nível trófico similar ao das espécies *C. paludica* e *I. chondrostoma*, indício de sobreposição dos recursos que utilizam, e as consideráveis taxas de consumo da espécie sugerem uma maior probabilidade de impacto nas espécies de peixes nativas através de competição por recursos do que através de predação.

Apesar da impossibilidade prática de aferição dos possíveis efeitos de *X. laevis* na estrutura das cadeias tróficas, os resultados obtidos poderão ser utilizados para acompanhar a sua evolução através de futuras análises comparativas. Nestas seria benéfico utilizar um maior número de amostras por componente da cadeia de forma a aplicar outras abordagens analíticas, como métricas de quantificação da área do nicho isotópico de cada componente e da sua variação espacial ou temporal. Considerando que o impacto de uma espécie invasora é determinado pela área total que ocupa, pela sua abundância e por alguma medida do impacto por indivíduo (Parker *et al.*, 1999), as taxas de consumo também poderão ser úteis para a construção de modelos de previsão de impactos locais na ribeira de Barcarena e em outras áreas invadidas.

Os ecossistemas mediterrânicos são particularmente vulneráveis ao estabelecimento de *X. laevis*, como demonstrado pelo sucesso invasor das populações do Chile, Califórnia e Itália. A abundância verificada em Portugal em 2014 evidencia a capacidade da espécie para explosões populacionais que facilitam a sua dispersão e o consequente agravamento dos seus impactos tróficos. Os resultados deste estudo reforçam a importância da continuação da monitorização regular do efectivo populacional de *X. laevis*, assim como das medidas aplicadas para a sua erradicação na ribeira de Barcarena, de forma a prevenir a ocorrência de impactos através de competição por recursos e uma possível perda de diversidade biológica.

## 7. Referências bibliográficas

- Alcorlo, P. & Baltanás, A. (2013) The trophic ecology of the red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) in Mediterranean aquatic ecosystems: a stable isotope study. *Limnetica*, **32**, 121–138.
- Alexandre, C.M., Sales, S., Ferreira, M.T. & Almeida, P.R. (2015) Food resources and cyprinid diet in permanent and temporary Mediterranean rivers with natural and regulated flow. *Ecology of Freshwater Fish*, **24**, 629–645.
- Amaral, P. & Rebelo, R. (2012) Diet of invasive clawed frog *Xenopus laevis* at Lage stream (Oeiras, W Portugal). *The Herpetological Journal*, **22**, 187–190.
- Anderson, C. & Cabana, G. (2007) Estimating the trophic position of aquatic consumers in river food webs using stable nitrogen isotopes. *Journal of the North American Benthological Society*, **26**, 273–285.
- Angeler, D.G., Sánchez-Carrillo, S., García, G. & Alvarez-Cobelas, M. (2001) The influence of *Procambarus clarkii* (Cambaridae, Decapoda) on water quality and sediment characteristics in a Spanish floodplain wetland. *Hydrobiologia*, **464**, 89–98.
- Araújo, M.S., Guimarães Jr., P.R., Svanback, R., Pinheiro, A., Guimarães, P., Reis, S.F.D. & Bolnick, D.I. (2008) Network analysis reveals contrasting effects of intraspecific competition on individual vs. population diets. *Ecology*, **89**, 1981–1993.
- Atkinson, C.L. (2013) Razor-backed musk turtle (*Sternotherus carinatus*) diet across a gradient of invasion. *Herpetological Conservation and Biology*, **8**, 561–570.
- Barton, D.R., Johnson, R.A., Campbell, L., Petruniak, J. & Patterson, M. (2005) Effects of round gobies (*Neogobius melanostomus*) on dreissenid mussels and other invertebrates in eastern Lake Erie, 2002–2004. *Journal of Great Lakes Research*, **31**, 252–261.
- Baxter, C.V., Fausch, K.D., Murakami, M. & Chapman, P.L. (2004) Fish invasion restructures stream and forest food webs by interrupting reciprocal prey subsidies. *Ecology*, **85**, 2656–2663.
- Bearhop, S., Adams, C.E., Waldron, S., Fuller, R.A. & MacLeod, H. (2004) Determining trophic niche width: a novel approach using stable isotope analysis. *Journal of Animal Ecology*, **73**, 1007–1012.
- Bernardes, M.L.G. (2008) Avaliação da população de uma nova espécie exótica em Portugal - *Xenopus laevis* (Daudin, 1802): biologia populacional e fenologia. Tese de Mestrado, Universidade de Lisboa.

- Bodey, T.W., Bearhop, S. & McDonald, R.A. (2011) Invasions and stable isotope analysis - informing ecology and management. *Island invasives: eradication and management* (ed. by C.R. Veitch, M.N. Clout and D.R. Towns), pp. 148–151. IUCN, Gland, Switzerland.
- Bolnick, D.I., Ingram, T., Stutz, W.E., Snowberg, L.K., Lau, O.L. & Paull, J.S. (2010) Ecological release from interspecific competition leads to decoupled changes in population and individual niche width. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, **277**, 1789–1797.
- Cabana, G. & Rasmussen, J.B. (1996) Comparison of aquatic food chains using nitrogen isotopes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **93**, 10844–10847.
- Cabral, M.J., Almeida, J., Almeida, P.R., Dellinger, T., Ferrand de Almeida, N., Oliveira, M.E., Palmeirim, J.M., Queiroz, A.J., Rogado, L. & Santos-Reis, M. (2005) *Livro vermelho dos vertebrados de Portugal*. Instituto da Conservação da Natureza, Lisboa.
- Cannatella, D.C. & De Sá, R.O. (1993) *Xenopus laevis* as a model organism. *Systematic Biology*, **42**, 476–507.
- Carreño, C.A. & Nishikawa, K.C. (2010) Aquatic feeding in pipid frogs: the use of suction for prey capture. *The Journal of Experimental Biology*, **213**, 2001–2008.
- Cheng, T.L., Rovito, S.M., Wake, D.B. & Vredenburg, V.T. (2011) Coincident mass extirpation of neotropical amphibians with the emergence of the infectious fungal pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **108**, 9502–9507.
- Chinery, M. (1993) *Insects of Britain and Northern Europe*. Harper-Collins, London.
- Chum, H., Felt, S., Garner, J. & Green, S. (2013) Biology, behavior, and environmental enrichment for the captive African clawed frog (*Xenopus* spp). *Applied Animal Behaviour Science*, **143**, 150–156.
- Coelho, M.M., Martins, M.J., Collares-Pereira, M.J., Pires, A.M. & Cowx, I.G. (1997) Diet and feeding relationships of two Iberian cyprinids. *Fisheries Management and Ecology*, **4**, 83–91.
- Copp, G.H., Bianco, P.G., Bogutskaya, N.G., Erős, T., Falka, I., Ferreira, M.T., Fox, M.G., Freyhof, J., Gozlan, R.E., Grabowska, J., Kovac, V., Moreno-Amich, R., Naseka, A.M., Penaz, M., Povz, M., Przybylski, M., Robillard, M., Russell, I.C., Stakenas, S., Sumer, S., Vila-Gispert, A. & Wiesner, C. (2005) To be, or not to be, a non-native freshwater fish? *Journal of Applied Ichthyology*, **21**, 242–262.

- Courant, J., Thirion, J.M., Guillon, M., Grillet, P. & Grosselet, O. (2014) Le régime alimentaire de *Xenopus laevis* (Daudin, 1802) (Anura: Pipidae) introduit en France. *Bulletin de la Société Herpétologique de France*, **150**, 1–7.
- Crayon, J.J. (2005) Species account: *Xenopus laevis*. *Amphibian declines: the conservation status of United States species* (ed. by M.J. Lannoo), pp. 522–525. University of California Press, Berkeley.
- Cucherousset, J. & Olden, J.D. (2011) Ecological impacts of nonnative freshwater fishes. *Fisheries*, **36**, 215–230.
- D'Aguillo, M.C., Harold, A.S. & Darden, T.L. (2014) Diet composition and feeding ecology of the naked goby *Gobiosoma bosc* (Gobiidae) from four western Atlantic estuaries. *Journal of Fish Biology*, **85**, 355–373.
- Dorner, H., Skov, C., Berg, S., Schulze, T., Beare, D.J. & Van der Velde, G. (2009) Piscivory and trophic position of *Anguilla anguilla* in two lakes: importance of macrozoobenthos density. *Journal of Fish Biology*, **74**, 2115–2131.
- Dudgeon, D., Arthington, A.H., Gessner, M.O., Kawabata, Z.I., Knowler, D.J., Lévêque, C., Naiman, R.J., Prieur-Richard, A-H., Soto, D., Stiassny, M.L.J. & Sullivan, C.A. (2006) Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological Reviews*, **81**, 163–182.
- Dunham, A.E. (1983) Realized niche overlap, resource abundance and intensity of interspecific competition. *Lizard ecology* (ed. by R.B. Huey, E.R. Pianka and T.W. Schoener), pp. 261–280. Harvard University Press, London.
- DuRant, S.E. & Hopkins, W.A. (2008) Amphibian predation on larval mosquitoes. *Canadian Journal of Zoology*, **86**, 1159–1164.
- Faraone, F.P., Lillo, F., Giacalone, G. & Valvo, M.L. (2008a) The large invasive population of *Xenopus laevis* in Sicily, Italy. *Amphibia-Reptilia*, **29**, 405–412.
- Faraone, F.P., Lillo, F., Giacalone, G. & Valvo, M.L. (2008b) Dieta di una popolazione di *Xenopus laevis* introdotta in Sicilia. *Herpetologia Sardiniae* (ed. by C. Corti), pp. 241–246. Societas Herpetologica Italica - Edizioni Belvedere, Oristano.
- Flecker, A.S. & Townsend, C.R. (1994) Community-wide consequences of trout introduction in New Zealand streams. *Ecological Applications*, **4**, 798–807.
- Fouquet, A. & Measey, G.J. (2006) Plotting the course of an African clawed frog invasion in Western France. *Animal Biology*, **56**, 95–102.
- France, R.L. & Peters, R.H. (1997) Ecosystem differences in the trophic enrichment of <sup>13</sup>C in aquatic food webs. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **54**, 1255–1258.

- Franssen, N.R. & Gido, K.B. (2006) Use of stable isotopes to test literature-based trophic classifications of small-bodied stream fishes. *The American Midland Naturalist*, **156**, 1–10.
- Garrido, S., Murta, A.G., Moreira, A., Ferreira, M.J. & Angélico, M.M. (2008) Horse mackerel (*Trachurus trachurus*) stomach fullness off Portugal: index calibration and spatio-temporal variations in feeding intensity. *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil*, **65**, 1662–1669.
- Gasith, A. & Resh, V.H. (1999) Streams in Mediterranean climate regions: abiotic influences and biotic responses to predictable seasonal events. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **30**, 51–81.
- Gherardi, F. (2007) Biological invasions in inland waters: an overview. *Biological invaders in inland waters: profiles, distribution, and threats* (ed. by F. Gherardi), pp. 3–25. Springer, Netherlands.
- Gibb, T.J. & Oseto, C.Y. (2006) *Arthropod collection and identification: laboratory and field techniques*. Academic Press.
- Goldschmidt, T., Witte, F. & Wanink, J. (1993) Cascading effects of the introduced Nile perch on the detritivorous/phytoplanktivorous species in the sublittoral areas of Lake Victoria. *Conservation Biology*, **7**, 686–700.
- Gomes-Ferreira, A., Ribeiro, F., Moreira da Costa, L., Cowx, I.G. & Collares-Pereira, M.J. (2005) Variability in diet and foraging behaviour between sexes and ploidy forms of the hybridogenetic *Squalius alburnoides* complex (Cyprinidae) in the Guadiana River basin, Portugal. *Journal of Fish Biology*, **66**, 454–467.
- Gratwicke, B. & Marshall, B.E. (2001) The relationship between the exotic predators *Micropterus salmoides* and *Serranochromis robustus* and native stream fishes in Zimbabwe. *Journal of Fish Biology*, **58**, 68–75.
- Green, S.L. (2009) *The laboratory Xenopus sp.* CRC Press, Boca Raton.
- Gurdon, J.B. & Hopwood, N. (2000) The introduction of *Xenopus laevis* into developmental biology: of empire, pregnancy testing and ribosomal genes. *International Journal of Developmental Biology*, **44**, 43–50.
- Haley, C.N., Blamey, L.K., Atkinson, L.J. & Branch, G.M. (2011) Dietary change of the rock lobster *Jasus lalandii* after an ‘invasive’ geographic shift: effects of size, density and food availability. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **93**, 160–170.
- Harada, Y., Goto, M., Ebihara, S., Fujisawa, H., Kegasawa, K. & Oishi, T. (1998) Circadian locomotor activity rhythms in the African clawed frog *Xenopus laevis*: the role of the eye and the hypothalamus. *Biological Rhythm Research*, **29**, 30–48.

- Huryn, A.D. (1998) Ecosystem-level evidence for top-down and bottom-up control of production in a grassland stream system. *Oecologia*, **115**, 173–183.
- Hyslop, E.J. (1980) Stomach contents analysis - a review of methods and their application. *Journal of Fish Biology*, **17**, 411–429.
- Instituto da Água (2001) Plano de Bacia Hidrográfica do Rio Tejo. Disponível em: [http://www.apambiente.pt/\\_zdata/Políticas/Água/PlaneamentoGestao/PBH2001/Tejo\\_RelatorioFinal.pdf](http://www.apambiente.pt/_zdata/Políticas/Água/PlaneamentoGestao/PBH2001/Tejo_RelatorioFinal.pdf).
- IUCN (2000) IUCN Guidelines for the Prevention of Biodiversity Loss Caused by Alien Invasive Species. Disponível em: [http://www.issg.org/pdf/guidelines\\_iucn.pdf](http://www.issg.org/pdf/guidelines_iucn.pdf).
- Jackson, M.C., Donohue, I., Jackson, A.L., Britton, J.R., Harper, D.M. & Grey, J. (2012) Population-level metrics of trophic structure based on stable isotopes and their application to invasion ecology. *PloS one*, **7**, e31757.
- Jackson, M.C., Ruiz-Navarro, A. & Britton, J.R. (2015) Population density modifies the ecological impacts of invasive species. *Oikos*, **124**, 880–887.
- Jokumsen, A. & Weber, R.E. (1980) Haemoglobin-oxygen binding properties in the blood of *Xenopus laevis*, with special reference to the influences of aestivation and of temperature and salinity acclimation. *The Journal of Experimental Biology*, **86**, 19–37.
- Kark, S., Solarz, W., Chiron, F., Clergeau, P. & Shirley, S. (2009) Alien birds, amphibians and reptiles of Europe. *Handbook of Alien Species in Europe* (ed. by DAISIE), pp. 105–118. Springer, Dordrecht.
- Kats, L.B. & Ferrer, R.P. (2003) Alien predators and amphibian declines: review of two decades of science and the transition to conservation. *Diversity and Distributions*, **9**, 99–110.
- Keller, R.P., Geist, J., Jeschke, J.M. & Kühn, I. (2011) Invasive species in Europe: ecology, status, and policy. *Environmental Sciences Europe*, **23**, 1–17.
- Kipp, R. & Ricciardi, A. (2012) Impacts of the Eurasian round goby (*Neogobius melanostomus*) on benthic communities in the upper St. Lawrence River. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **69**, 469–486.
- Kokuryo, Y. (2009) A survey of feral populations of African clawed toad in Shizuoka Prefecture. *Bulletin of the Herpetological Society of Japan*, 103–106.
- Kondolf, G.M.M., Podolak, K. & Gaffney, A. (2010) From High Rise to Coast: Revitalizing Ribeira da Barcarena. Disponível em: <http://escholarship.org/uc/item/3q77s4ss>.

- Krebs, C. (1999) *Ecological methodology*. Harper & Row, New York.
- Kreps, T.A., Baldrige, A.K. & Lodge, D.M. (2012) The impact of an invasive predator (*Orconectes rusticus*) on freshwater snail communities: insights on habitat-specific effects from a multilake long-term study. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **69**, 1164–1173.
- Lafferty, K.D. & Page, C.J. (1997) Predation on the endangered tidewater goby, *Eucyclogobius newberryi*, by the introduced African clawed frog, *Xenopus laevis*, with notes on the frog's parasites. *Copeia*, **3**, 589–592.
- Lake, J.L., McKinney, R.A., Osterman, F.A., Pruell, R.J., Kiddon, J., Ryba, S.A. & Libby, A.D. (2001) Stable nitrogen isotopes as indicators of anthropogenic activities in small freshwater systems. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **58**, 870–878.
- Layman, C.A., Araújo, M.S., Boucek, R., Hammerschlag-Peyer, C.M., Harrison, E., Jud, Z.R., Matich, P., Rosenblatt, A.E., Vaudo, J.J., Yeager, L.A., Post, D.M. & Bearhop, S. (2012) Applying stable isotopes to examine food-web structure: an overview of analytical tools. *Biological Reviews*, **87**, 545–562.
- Lillo, F., Marrone, F., Sicilia, A., Castelli, G. & Zava, B. (2005) An invasive population of *Xenopus laevis* (Daudin, 1802) in Italy. *Herpetozoa*, **18**, 63–64.
- Lillo, F., Faraone, F.P. & Valvo, M.L. (2011) Can the introduction of *Xenopus laevis* affect native amphibian populations? Reduction of reproductive occurrence in presence of the invasive species. *Biological Invasions*, **13**, 1533–1541.
- Lobos, G. & Jaksic, F.M. (2005) The ongoing invasion of African clawed frogs (*Xenopus laevis*) in Chile: causes of concern. *Biodiversity & Conservation*, **14**, 429–439.
- Lobos, G. & Measey, G.J. (2002) Invasive populations of *Xenopus laevis* (Daudin) in Chile. *Herpetological Journal*, **12**, 163–168.
- Lobos, G., Cattán, P., Estades, C. & Jaksic, F.M. (2013) Invasive African clawed frog *Xenopus laevis* in southern South America: key factors and predictions. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, **48**, 1–12.
- Lodge, D.M., Stein, R.A., Brown, K.M., Covich, A.P., Bronmark, C., Garvey, J.E. & Klosiewski, S.P. (1998) Predicting impact of freshwater exotic species on native biodiversity: challenges in spatial scaling. *Australian Journal of Ecology*, **23**, 53–67.
- Lodge, D.M., Williams, S., MacIsaac, H.J., Hayes, K.R., Leung, B., Reichard, S., Mack, R.N., Moyle, P.B., Smith, M., Andow, D.A., Carlwon, J.T. & McMichael A. (2006) Biological invasions: recommendations for US policy and management. *Ecological Applications*, **16**, 2035–2054.

- Lowe, S., Browne, M., Boudjelas, S. & De Poorter, M. (2000) *100 of the world's worst invasive alien species: a selection from the global invasive species database*. Invasive Species Specialist Group, Auckland, New Zealand.
- Mack, R.N., Simberloff, D., Lonsdale, W.M., Evans, H., Clout, M. & Bazzaz, F.A. (2000) Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological Applications*, **10**, 689–710.
- Magalhães, M.F. (1993) Feeding of an Iberian stream cyprinid assemblage: seasonality of resource use in a highly variable environment. *Oecologia*, **96**, 253–260.
- Magurran, A.E. (2004) *Measuring biological diversity*. Wiley, United Kingdom.
- McCoid, M.J. & Fritts, T.H. (1980) Notes on the diet of a feral population of *Xenopus laevis* (Pipidae) in California. *The Southwestern Naturalist*, **25**, 272–275.
- McCoid, M.J. & Fritts, T.H. (1989) Growth and fatbody cycles in feral populations of the African clawed frog, *Xenopus laevis* (Pipidae), in California with comments on reproduction. *The Southwestern Naturalist*, **34**, 499–505.
- McCoid, M.J. & Fritts, T.H. (1993) Speculations on colonizing success of the African clawed frog, *Xenopus laevis* (Pipidae), in California. *South African Journal of Zoology*, **28**, 59–61.
- McCutchan, J.H., Lewis, W.M., Kendall, C. & McGrath, C.C. (2003) Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen, and sulfur. *Oikos*, **102**, 378–390.
- Measey, G.J. (1998) Diet of feral *Xenopus laevis* (Daudin) in South Wales, UK. *Journal of Zoology*, **246**, 287–298.
- Measey, G.J. (2001) Growth and ageing of feral *Xenopus laevis* (Daudin) in South Wales, UK. *Journal of Zoology*, **254**, 547–555.
- Measey, G.J., Rödder, D., Green, S.L., Kobayashi, R., Lillo, F., Lobos, G., Rebelo, R. & Thirion, J.M. (2012) Ongoing invasions of the African clawed frog, *Xenopus laevis*: a global review. *Biological Invasions*, **14**, 2255–2270.
- Measey, G.J. & Tinsley, R.C. (1998) Feral *Xenopus laevis* in south Wales. *Herpetological Journal*, **8**, 23–28.
- Meyerson, L.A. & Mooney, H.A. (2007) Invasive alien species in an era of globalization. *Frontiers in Ecology and the Environment*, **5**, 199–208.
- Moore, J.W., Carlson, S.M., Twardochleb, L.A., Hwan, J.L., Fox, J.M. & Hayes, S.A. (2012) Trophic tangles through time? Opposing direct and indirect effects of an invasive omnivore on stream ecosystem processes. *PloS one*, **7**, e50687.



- Moorhouse, T.P. & Macdonald, D.W. (2015) Are invasives worse in freshwater than terrestrial ecosystems? *Wiley Interdisciplinary Reviews: Water*, **2**, 1–8.
- Nystrom, P., Bronmark, C. & Granéli, W. (1999) Influence of an exotic and a native crayfish species on a littoral benthic community. *Oikos*, **85**, 545–553.
- Olsson, K., Stenroth, P., Nystrom, P. & Graneli, W. (2009) Invasions and niche width: does niche width of an introduced crayfish differ from a native crayfish? *Freshwater Biology*, **54**, 1731–1740.
- Park, K. (2004) Assessment and management of invasive alien predators. *Ecology and Society*, **9**, 12.
- Parker, I.M., Simberloff, D., Lonsdale, W.M., Goodell, K., Wonham, M., Kareiva, P.M., Williamson, M.H., Von Holle, B., Moyle, P.B., Byers, J.E. & Goldwasser, L. (1999) Impact: towards a framework for understanding the ecological effects of invaders. *Biological Invasions*, **1**, 3–9.
- Pauly, D., Trites, A.W., Capuli, E. & Christensen, V. (1998) Diet composition and trophic levels of marine mammals. *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil*, **55**, 467–481.
- Peterson, B.J. & Fry, B. (1987) Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 293–320.
- Pinkas, L., Oliphant, M.S. & Iverson, Z.L. (1971) Food habits of Albacore Bluefin, tuna and bonito in California waters. *California Department Fish Game - Fish Bulletin*, **152**, 1–350.
- Post, D.M. (2002) Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology*, **83**, 703–718.
- Pysek, P., Jarošík, V., Hulme, P.E., Pergl, J., Hejda, M., Schaffner, U. & Vilà, M. (2012) A global assessment of invasive plant impacts on resident species, communities and ecosystems: the interaction of impact measures, invading species' traits and environment. *Global Change Biology*, **18**, 1725–1737.
- Raby, G.D., Gutowsky, L.F. & Fox, M.G. (2010) Diet composition and consumption rate in round goby (*Neogobius melanostomus*) in its expansion phase in the Trent River, Ontario. *Environmental Biology of Fishes*, **89**, 143–150.
- Rebelo, R., Amaral, P., Bernardes, M., Oliveira, J., Pinheiro, P. & Leitão, D. (2010) *Xenopus laevis* (Daudin, 1802), a new exotic amphibian in Portugal. *Biological Invasions*, **12**, 3383–3387.
- Rebelo, R., Maurício, A. & Sousa, M. (2014) Plano de erradicação de *Xenopus laevis* nas ribeiras do concelho de Oeiras. Disponível em: <http://www.icnf.pt/portal/naturaclas/patrinatur/resource/docs/exot/relatorio-2014>.

- Reed, B.T. (2005) *Guidance on the housing and care of the African clawed frog - Xenopus laevis*. Royal Society of the Prevention of Cruelty to Animals, Research Animals Department, London.
- Resh, V.H., Bêche, L.A., Lawrence, J.E., Mazor, R.D., McElravy, E.P., O'Dowd, A.P., Rudnick, D. & Carlson, S.M. (2013) Long-term population and community patterns of benthic macroinvertebrates and fishes in Northern California Mediterranean-climate streams. *Hydrobiologia*, **719**, 93–118.
- Ricciardi, A. (2007) Are modern biological invasions an unprecedented form of global change? *Conservation Biology*, **21**, 329–336.
- Ricciardi, A., Neves, R.J. & Rasmussen, J.B. (1998) Impending extinctions of North American freshwater mussels (Unionoida) following the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) invasion. *Journal of Animal Ecology*, **67**, 613–619.
- Rybczynski, S.M., Walters, D.M., Fritz, K.M. & Johnson, B.R. (2008) Comparing trophic position of stream fishes using stable isotope and gut contents analyses. *Ecology of Freshwater Fish*, **17**, 199–206.
- Sala, O.E., Chapin, F.S., Armesto, J.J., Berlow, E., Bloomfield, J., Dirzo, R., Huber-Sanwald, E., Huenneke, L.F., Jackson, R.B., Kinzig, A., Leemans, R., Lodge, D.M., Mooney, H.A., Oesterheld, M., Poff, N.L., Sykes, M.T., Walker, B.H., Walker, M. & Wall, D.H. (2000) Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science*, **287**, 1770–1774.
- Salgado, J.P., Cabral, H.N. & Costa, M.J. (2004) Feeding ecology of the gobies *Pomatoschistus minutes* (Pallas, 1770) and *Pomatoschistus microps* (Kroyer, 1838) in the upper Tagus estuary, Portugal. *Scientia Marina*, **68**, 425–434.
- San Sebastián, O., Navarro, J., Llorente, G.A. & Richter-Boix, Á. (2015) Trophic strategies of a non-native and a native amphibian species in shared ponds. *PloS one*, **10**, e0130549.
- Sánchez-Carmona, R., Encina, L., Rodríguez-Ruíz, A. & Rodríguez-Sánchez, V. (2008) Age, growth and diet of the Iberian loach, *Cobitis paludica* in two different environments. *Folia Zoologica*, **57**, 420–434.
- Sánchez-Hernández, J., Vieira-Lanero, R., Servia, M.J. & Cobo, F. (2011) Feeding habits of four sympatric fish species in the Iberian Peninsula: keys to understanding coexistence using prey traits. *Hydrobiologia*, **667**, 119–132.
- Santos, J.M., Encina, L., Oliveira, J. & Teixeira, A. (2013) Feeding ecology of the Ruivaco *Achondrostoma oligolepis*, a Portuguese endemic cyprinid fish. *Limnetica*, **32**, 27–38.

- Schoonbee, H.J., Prinsloo, J.F. & Nxiweni, J.G. (1992) Observations on the feeding habits of larvae, juvenile and adult stages of the African clawed frog, *Xenopus laevis*, in impoundments in Transkei. *Water SA*, **18**, 227–227.
- Shine, R. (2010) The ecological impact of invasive cane toads (*Bufo marinus*) in Australia. *The Quarterly Review of Biology*, **85**, 253–291.
- Simon, K.S. & Townsend, C.R. (2003) Impacts of freshwater invaders at different levels of ecological organisation, with emphasis on salmonids and ecosystem consequences. *Freshwater Biology*, **48**, 982–994.
- Sol, D., Bartomeus, I. & Griffin, A.S. (2012) The paradox of invasion in birds: competitive superiority or ecological opportunism? *Oecologia*, **169**, 553–564.
- Solís, R., Lobos, G., Walker, S.F., Fisher, M. & Bosch, J. (2010) Presence of *Batrachochytrium dendrobatidis* in feral populations of *Xenopus laevis* in Chile. *Biological Invasions*, **12**, 1641–1646.
- Soriguer, M.C., Vallespín, C., Gomez-Cama, C. & Hernando, J.A. (2000) Age, diet, growth and reproduction of a population of *Cobitis paludica* (de Buen, 1930) in the Palancar Stream (southwest of Europe, Spain) (Pisces: Cobitidae). *Hydrobiologia*, **436**, 51–58.
- Svanback, R. & Bolnick, D.I. (2007) Intraspecific competition drives increased resource use diversity within a natural population. *Proceedings of the Royal Society of London: Biological Sciences*, **274**, 839–844.
- Svanback, R. & Persson, L. (2004) Individual diet specialization, niche width and population dynamics: implications for trophic polymorphisms. *Journal of Animal Ecology*, **73**, 973–982.
- Tachet, H., Richoux, P., Bournaud, M. & Usseglio-Polatera, P. (2006) *Invertébrés d'eau douce: systématique, biologie, écologie*. CNRS editions, Paris.
- Taylor, B.W., McIntosh, A.R. & Peckarsky, B.L. (2001) Sampling stream invertebrates using electroshocking techniques: implications for basic and applied research. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **58**, 437–445.
- Tilman, D. (2004) Niche tradeoffs, neutrality, and community structure: a stochastic theory of resource competition, invasion, and community assembly. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **101**, 10854–10861.
- Tinsley, R.C., Loumont, C. & Kobel, H.R. (1996) Geographical distribution and ecology. *The biology of Xenopus* (ed. by R.C. Tinsley and H.R. Kobel), pp. 33–39. Oxford University Press, Oxford.

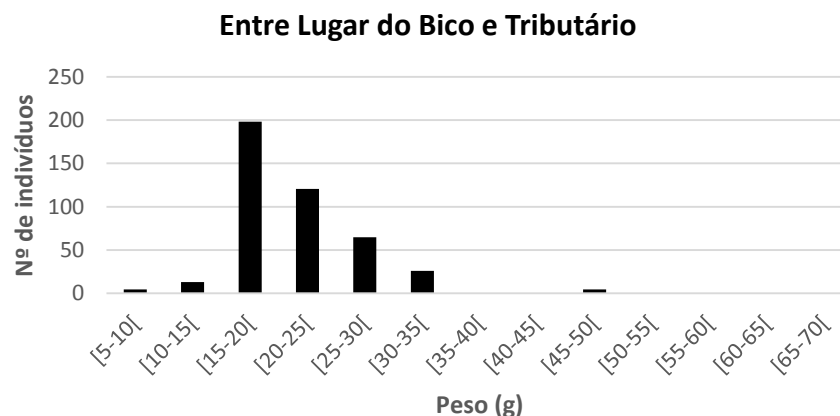
- Tinsley, R.C. & McCoid, M.J. (1996) Feral populations of *Xenopus* outside Africa. *The biology of Xenopus* (ed. by R.C. Tinsley and H.R. Kobel), pp. 81–94. Oxford University Press, Oxford.
- Vale, P. (2010) Plano de erradicação de *Xenopus laevis* (Daudin 1802) em Portugal: Avaliação da primeira fase e pesquisa da presença do fungo patogénico *Batrachochytrium dendrobatidis* (Longcore, Pessier & Nichols 1999). Tese de Mestrado, Universidade de Lisboa.
- Vander Zanden, M.J. & Rasmussen, J.B. (1999) Primary consumer  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  and the trophic position of aquatic consumers. *Ecology*, **80**, 1395–1404.
- Vander Zanden, M.J. & Rasmussen, J.B. (2001) Variation in  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  trophic fractionation: implications for aquatic food web studies. *Limnology and Oceanography*, **46**, 2061–2066.
- Vander Zanden, M.J. Cabana, G. & Rasmussen, J.B. (1997) Comparing trophic position of freshwater fish calculated using stable nitrogen isotope ratios ( $\delta^{15}\text{N}$ ) and literature dietary data. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **54**, 1142–1158.
- Vander Zanden, M.J., Casselman, J.M. & Rasmussen, J.B. (1999) Stable isotope evidence for the food web consequences of species invasions in lakes. *Nature*, **401**, 464–467.
- Weldon, C., Du Preez, L.H., Hyatt, A.D., Muller, R. & Speare, R. (2004) Origin of the amphibian chytrid fungus. *Emerging Infectious Diseases*, **10**, 2100–2105.
- Wesner, J.S. & Belk, M.C. (2015) Variation in the trophic position of common stream fishes and its relationship to the presence of a rare fish, northern leatherside chub (*Lepidomeda copei*). *Ecology of Freshwater Fish*, **24**, 234–241.
- Wolda, H. (1981) Similarity indices, sample size and diversity. *Oecologia*, **50**, 296–302.
- Yokomizo, H., Possingham, H.P., Thomas, M.B. & Buckley, Y.M. (2009) Managing the impact of invasive species: the value of knowing the density-impact curve. *Ecological Applications*, **19**, 376–386.
- Yoshioka, T., Wada, E. & Hayashi, H. (1994) A stable isotope study on seasonal food web dynamics in a eutrophic lake. *Ecology*, **75**, 835–846.

## 8. Anexos

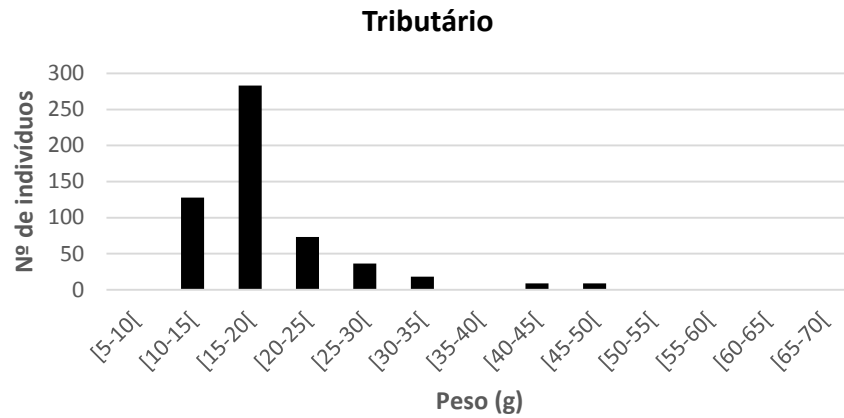
**Anexo I** - Coordenadas rectangulares dos locais que separam os troços de amostragem na ribeira de Barcarena (sistema de referência ETRS89-PT-TM06).

Local	XX	YY
Ponte de S. Marcos	-100554,01	-101120,37
Lugar do Bico	-100302,88	-101754,10
Tributário	-100392,32	-101997,80
Fábrica da Pólvora	-100202,03	-102199,30
Viveiros	-100013,07	-102606,00
Ribeira-a-Baixo	-99899,89	-102942,58
Pedreira Italiana	-99163,03	-105325,88
Murganhal	-99160,11	-105863,22

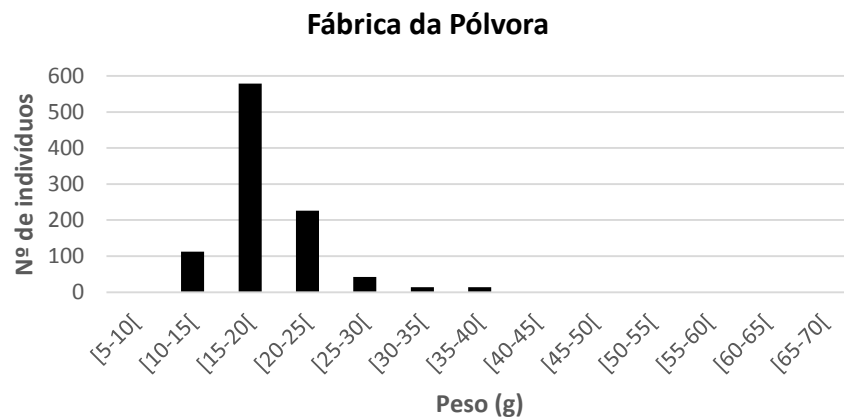
**Anexo II** - Estrutura de tamanho corporal (peso) da população de *X. laevis* nos troços considerados para as estimativas de consumo. Esta estrutura foi baseada em estimativas do número de indivíduos existentes em cada troço no início da primavera de 2014 (Rebelo *et al.*, 2014) e na distribuição de amostras dos troços por classes de peso.



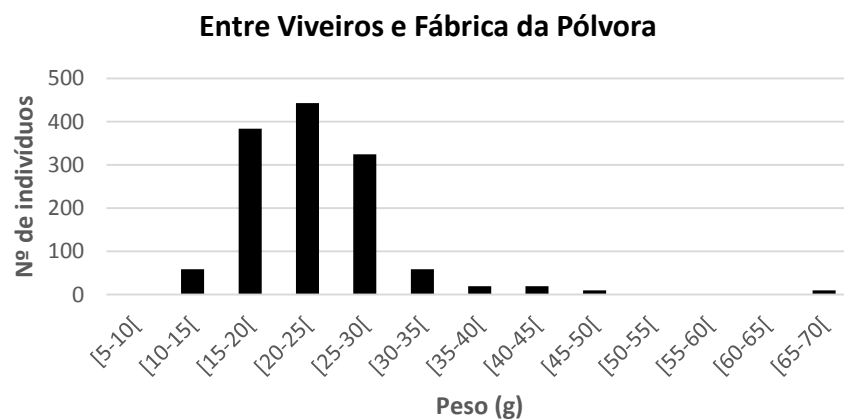
**Figura a.** Estrutura de tamanho corporal do efectivo populacional estimado para o troço Entre Lugar do Bico e Tributário (n=431).



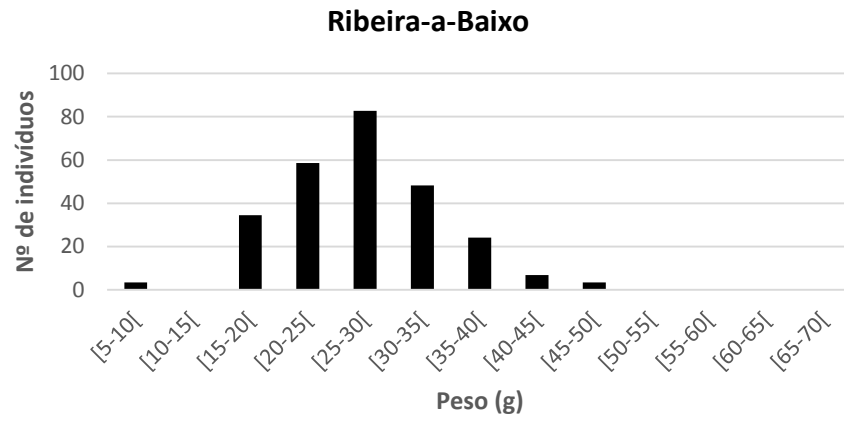
**Figura b.** Estrutura de tamanho corporal do efectivo populacional estimado para o troço Tributário (n=557).



**Figura c.** Estrutura de tamanho corporal do efectivo populacional estimado para o troço Fábrica da Pólvora (n=988).



**Figura d.** Estrutura de tamanho corporal do efectivo populacional estimado para o troço Entre Viveiros e Fábrica da Pólvora (n=1327).



**Figura e.** Estrutura de tamanho corporal do efectivo populacional estimado para o troço Ribeira-a-Baixo (n=262).